(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **3 003 809**

(51) Int. CI.:

A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61P 39/02 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.11.2018 PCT/US2018/058811**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **09.05.2019 WO19090003**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2018 E 18815386 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2024 EP 3703750**

(54) Título: **Receptores de antígenos quiméricos específicos para el antígeno de maduración de linfocitos B y polinucleótidos codificantes**

(30) Prioridad:

01.11.2017 US 201762580439 P
01.11.2017 US 201762580445 P
07.11.2017 US 201762582932 P
07.11.2017 US 201762582938 P
08.12.2017 US 201762596763 P
08.12.2017 US 201762596765 P
08.01.2018 US 201862614960 P
08.01.2018 US 201862614963 P
01.05.2018 US 201862665442 P
01.05.2018 US 201862665447 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2025

(73) Titular/es:

JUNO THERAPEUTICS, INC. (50.00%)
400 Dexter Avenue North, Suite 1200
Seattle, WA 98109, US y
MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER CENTER (50.00%)

(72) Inventor/es:

SATHER, BLYTHE D.;
SMITH, ERIC L.;
AMIN, RUPESH;
CHEN, AYE;
HARRINGTON, KIMBERLY;
HAUSKINS, COLLIN;
HESS, ERIK;
DE IMUS, CYR;
JONES, JON;
OLSHEFSKY, AUDREY;
PONKO, STEFAN;
SALMON, RUTH;
TAREEN, SEMIH;
WU, REBECCA;
CHEN, YAN;
STIRNER, MARIANA COTA;
SHAMAH, STEVEN M.;
DUTTA-SIMMONS, JUI;
WORKS, MELISSA y
PAZMANY, CSABA

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

(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **3 003 809**

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

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

ES 3 003 809 T3

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

DESCRIPCIÓN

Receptores de antígenos quiméricos específicos para el antígeno de maduración de linfocitos B y polinucleótidos codificantes

Campo

La presente divulgación se refiere en algunos aspectos a polinucleótidos que codifican receptores de antígenos quiméricos (CAR) específicos para el antígeno de maduración de células B (BCMA). La divulgación se refiere además a células modificadas por ingeniería genética, que contienen dichos polinucleótidos que codifican CAR de unión a BCMA, y a usos de las mismas en terapia celular adoptiva.

Antecedentes

El antígeno de maduración de células B (BCMA) es una proteína transmembrana de tipo III que se expresa en los linfocitos B maduros. Tras la unión de BCMA a sus ligandos, un activador de linfocitos B de la familia TNF (BAFF) o un ligando inductor de la proliferación (APRIL), se envía a la célula B una señal prosupervivencia celular que se ha descubierto que es necesaria para la supervivencia de las células plasmáticas. La expresión de BCMA se ha vinculado a varias enfermedades, incluyendo el cáncer, trastornos autoinmunitarios y enfermedades infecciosas. Debido a la función de BCMA en diversas enfermedades y afecciones, incluyendo el cáncer, BCMA es una diana terapéutica. Hay disponibles diversos receptores de antígenos quiméricos (CAR) de unión a BCMA, y células que expresan dichos CAR. Sin embargo, siguen siendo necesarios CAR de unión a BCMA mejorados y células de direccionamiento que expresen BCMA-CAR modificadas por ingeniería, tal como para uso en terapia celular adoptiva. En el presente documento se proporcionan realizaciones que satisfacen dichas necesidades.

El documento WO2015/158671 describe CAR específicos de BCMA para la inmunoterapia del cáncer.

Sumario

Cualesquier referencias en el presente documento a métodos de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia se refiere a sustancias o composiciones para su uso en dichos métodos.

La presente invención proporciona un polinucleótido que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR), en donde:

(i) el CAR comprende: (a) un dominio de unión a antígeno extracelular que reconoce específicamente el antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA); (b) un espaciador de al menos 125 aminoácidos de longitud; (c) un dominio transmembrana; y (d) una región de señalización intracelular; y
(ii) la secuencia de ácido nucleico que codifica el espaciador comprende al menos un sitio donante de corte y empalme y/o aceptor de corte y empalme modificado, correspondiendo el sitio donante y/o aceptor de corte y empalme modificado que comprende una o más modificaciones de nucleótidos a un sitio donante y/o aceptor de corte y empalme de referencia contenido en la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 621; en donde:

el sitio donante de corte y empalme modificado se expone en agtctaaatacggac (SEQ ID NO: 661), tcaactggtatgtgg (SEQ ID NO: 662), accatctccaaggcc (SEQ ID NO: 663) y/o gccccaggtttacac (SEQ ID NO: 664); y/o
el sitio aceptor de corte y empalme modificado se expone en cagtttcttcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa (SEQ ID NO: 672), gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgc (SEQ ID NO: 673) y/o cgccttgtcctccttgtcccgctcctcctgttgccggacct (SEQ ID NO: 766).

La invención también proporciona un vector que comprende el polinucleótido de la invención.

La invención proporciona además una célula modificada por ingeniería, que comprende el polinucleótido o el vector de la invención.

La invención proporciona además una composición que comprende el polinucleótido o el vector o la célula modificada por ingeniería de la invención.

La invención proporciona además la célula modificada por ingeniería o la composición de la invención, para su uso en un método de tratamiento.

La invención proporciona además la célula modificada por ingeniería o la composición de la invención, para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno asociados a la expresión del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA).

Realizaciones y detalles específicos

La divulgación técnica que se expone a continuación puede, en algunos aspectos, ir más allá del alcance de las reivindicaciones. Los elementos de la divulgación que no se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones se proporcionan a título informativo.

En algunas realizaciones, después de la expresión del polinucleótido en una célula, el ARN transcrito, opcionalmente ARN mensajero (ARNm), a partir del polinucleótido, presenta al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de homogeneidad del ARN. En algunos casos, el espaciador deriva de una inmunoglobulina. En algunas realizaciones, el espaciador incluye una secuencia de una región bisagra, una región C_H2 y una C_H3. En algunas realizaciones, una o más de entre la bisagra, C_H2 y C_H3 deriva total o parcialmente de IgG4 o IgG2. En algunos casos, la bisagra, C_H2 y C_H3 derivan de IgG4. En algunos aspectos, una o más de entre la bisagra, C_H2 y C_H3 es quimérica y contiene una secuencia derivada de IgG4 e IgG2. En algunos ejemplos, el espaciador contiene una bisagra quimérica de IgG4/2, una región C_H2 de IgG2/4 y una C_H3 de IgG4. En algunas realizaciones, el espaciador codificado es o contiene (i) la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 649; (ii) una variante funcional de la SEQ ID NO: 649 que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 649; o (iii) una porción contigua de (i) o (ii) que tiene al menos 125 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, el espaciador codificado es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 649.

En algunas de las realizaciones, el espaciador tiene una longitud de 125 a 300 aminoácidos de longitud, de 125 a 250 aminoácidos de longitud, de 125 a 230 aminoácidos de longitud, de 125 a 200 aminoácidos de longitud, de 125 a 180 aminoácidos de longitud, de 125 a 150 aminoácidos de longitud, de 150 a 300 aminoácidos de longitud, de 150 a 250 aminoácidos de longitud, de 150 a 230 aminoácidos de longitud, de 150 a 200 aminoácidos de longitud, de 150 a 180 aminoácidos de longitud, de 180 a 300 aminoácidos de longitud, de 180 a 250 aminoácidos de longitud, de 180 a 230 aminoácidos de longitud, de 180 a 200 aminoácidos de longitud, de 200 a 300 aminoácidos de longitud, de 200 a 250 aminoácidos de longitud, de 200 a 230 aminoácidos de longitud, de 230 a 300 aminoácidos de longitud, de 230 a 250 aminoácidos de longitud o de 250 a 300 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, el espaciador tiene al menos o al menos aproximadamente o tiene o tiene aproximadamente 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 o 229 aminoácidos de longitud, o una longitud entre cualquiera de las anteriores.

En algunas ocasiones, los sitios aceptores de corte y empalme de referencia y/o donantes de corte y empalme de referencia son sitios de corte y empalme canónicos, no canónicos o crípticos. En algunos ejemplos, el sitio o sitios donantes de corte y empalme de referencia y/o aceptores de corte y empalme de referencia tienen una puntuación de predicción de sitios de corte y empalme de al menos o aproximadamente 0,4, 0,5, 0,6, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 0,99 o 1,0; y/o se predice que el sitio o sitios donantes de corte y empalme de referencia y/o aceptores de corte y empalme de referencia están implicados en un evento de corte y empalme con una probabilidad de al menos el 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 %.

En los polinucleótidos de la invención, al menos una de la una o más modificaciones de nucleótidos está a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 restos de la unión del sitio de corte y empalme del sitio aceptor de corte y empalme de referencia y/o donante de corte y empalme de referencia. En algunos aspectos, la una o más modificaciones de nucleótidos es silenciosa y/o da como resultado un codón degenerado en comparación con la SEQ ID NO: 621 y/o no cambia la secuencia de aminoácidos del espaciador codificado. En algunos casos, el sitio donante de corte y empalme modificado se expone en tcaactggtatgtgg (SEQ ID NO: 662) y/o el sitio aceptor modificado se expone en cagtttcttcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa (SEQ ID NO: 672). En algunas de cualquiera de dichas realizaciones, el espaciador está codificado por una secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 622 o una porción de la misma.

En algunas realizaciones, el polinucleótido incluye ácido nucleico que codifica: (a) un dominio de unión a antígeno extracelular que reconoce específicamente un antígeno, en particular BCMA; (b) un espaciador de al menos 125 aminoácidos de longitud, en donde el ácido nucleico codificante es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 622 o codifica una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 649; (c) un dominio transmembrana; y (d) una región de señalización intracelular.

En algunas realizaciones, el polinucleótido incluye ácido nucleico que codifica: (a) un dominio de unión a antígeno extracelular que reconoce específicamente un antígeno, en particular BCMA; (b) un espaciador de al menos 125 aminoácidos de longitud, en donde el ácido nucleico codificante incluye o incluye en su mayor parte la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 622 o codifica una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 649; (c) un dominio transmembrana; y (d) una región de señalización intracelular.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, después de la expresión del polinucleótido en una célula, el ARN transcrito, opcionalmente ARN mensajero (ARNm), a partir del polinucleótido, presenta al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de homogeneidad del ARN. En algunas realizaciones, después de la expresión en una célula, el ARN transcrito, opcionalmente ARN mensajero (ARNm), a partir del polinucleótido presenta una heterogeneidad reducida en comparación con la heterogeneidad del ARNm transcrito a partir de un polinucleótido de referencia, codificando dicho polinucleótido de referencia la misma secuencia de aminoácidos que el polinucleótido, en donde el polinucleótido de referencia difiere por la presencia de uno o más sitios donantes de corte y empalme y/o uno o más

sitios aceptores de corte y empalme en el ácido nucleico que codifica el espaciador y/o incluye una o más modificaciones de nucleótidos en comparación con el polinucleótido. En algunas ocasiones, la heterogeneidad del ARN se reduce en más de o más de aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más. En algunos casos, el ARN transcrito, opcionalmente ARN mensajero (ARNm), a partir del polinucleótido de referencia presenta más de o más de aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más de heterogeneidad del ARN. En algunas de cualquiera de dichas realizaciones, la homogeneidad y/o heterogeneidad del ARN se determina mediante electroforesis en gel de agarosa, electroforesis capilar basada en chip, ultracentrifugación analítica, fraccionamiento de flujo de campo o cromatografía de líquidos. En algunas de cualquiera de dichas realizaciones, el polinucleótido tiene codones optimizados.

En la invención, el antígeno es BCMA. En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, el antígeno se asocia a la enfermedad o afección o se expresa en células del entorno de una lesión asociada a la enfermedad o afección. En algunos casos, la enfermedad o afección es un cáncer. En algunos ejemplos, la enfermedad o afección es un mieloma, leucemia o linfoma.

En algunas de cualquiera de dichas realizaciones, el dominio de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo que contiene una cadena pesada variable (V_H) y una región de cadena ligera variable (V_L). En algunos aspectos, la región V_H es o incluye una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609 617, 772-774 u 814-832; y/o la región V_L es o incluye una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la región V_L expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 u 833-849. En algunos casos, la región V_H es o incluye una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609, 617, 772-774 u 814-832; y/o la región V_L es o incluye una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la región V_L expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 u 833-849.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_H es o contiene una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 u 814-832; y/o la región V_L es o incluye una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 u 833-849. En algunas realizaciones, la región V_H es o contiene una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609, 617, 772-774 u 814-832; y/o la región V_L es o incluye una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 u 833-849. En algunas realizaciones, la región V_H es o incluye (a) una región 1 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H1) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295, 507, 532, 593, 596, 604, 611; y/o (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H2) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 594, 597, 605 o 612; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595, 606, 613; y/o la región V_L es o incluye (a) una región 1 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L1) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589, 601, 607 o 614; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L2) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590, 602, 608 o 615; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L3) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 o 603.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_H es o contiene (a) una región 1 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H1) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 2, 3, 141, 143, 144, 288, 289, 507, 593, 604, 611; y/o (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H2) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 5, 6, 145, 147, 148, 290, 291, 372, 513, 594, 605 o 612; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 149, 153, 154, 155, 156, 157, 292, 293, 376, 517, 595, 606 o 613; y/o la región V_L es o contiene (a) una región 1 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L1) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una

cualquiera de las SEQ ID NO: 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 174, 176, 177, 178, 302, 303, 380, 381, 382, 589, 601, 607 o 614; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L2) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 37, 38, 39, 41, 43, 44, 179, 181, 182, 183, 304, 305, 399, 400, 401, 402, 590, 602, 608 o 615; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L3) que contiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 47, 48, 49, 51, 52, 55, 56, 185, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 306, 307, 415, 417, 418, 421, 591 o 603.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_H contiene una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3, seleccionadas de: una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 8, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 9, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 11, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 140, 145 y 149, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 141, 145 y 149, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 141, 145 y 150, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 142, 146 y 151, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 152, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 143, 147 y 153, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 144, 148 y 154, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 155, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 156, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 157, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 6 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 155, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 372 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 377, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 373 y 152, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 378, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 374 y 9, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 507, 513 y 517, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 604, 605 y 606, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 288, 290 y 292, respectivamente; o una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 289, 291 y 293, respectivamente.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_H contiene una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3, seleccionadas de: una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 8, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 9, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 141, 145 y 149, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 143, 147 y 153, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 144, 148 y 154, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 155, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 156, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 157, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 6 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 155, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 372 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente; una CDR-

H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 507, 513 y 517, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 604, 605 y 606, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 288, 290 y 292, respectivamente; o una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 289, 291 y 293, respectivamente;

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_H es o incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 u 814-832. En algunos aspectos, la región V_H es o incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609 o 617. En algunas realizaciones, la región V_H contiene una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente; o la región V_H incluye una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente. En algunas realizaciones, la región V_H es o incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 617.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_L incluye una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 seleccionadas de: una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 26, 37 y 47, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 27, 38 y 48, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 28, 39 y 49, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 29, 40 y 50, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 30, 39 y 51, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 31, 41 y 52, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 32, 42 y 53, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 30, 39 y 54, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 33, 43 y 55, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 34, 44 y 56, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 35, 45 y 57, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 36, 46 y 58, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 184, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 185, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 186, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 187, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 175, 180 y 188, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 189, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 176, 181 y 190, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 177, 182 y 191, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 192, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 178, 183 y 193, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 178, 183 y 194, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 30, 399 y 415, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 380, 400 y 416, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 33, 43 y 421, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 381, 401 y 417, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 382, 402 y 418, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 383, 403 y 419, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 384, 39 y 54, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 385, 180 y 58, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 175, 180 y 188, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 386, 404 y 420, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 387, 405 y 422, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 388, 406 y 423, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 388, 407 y 424, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 389, 408 y 425, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 390, 183 y 193, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 391, 409 y 426, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de

aminoácidos de las SEQ ID NO: 392, 40 y 427, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 394, 39 y 429, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 395, 411 y 430, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 396, 412 y 431, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 396, 412 y 58, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 397, 413 y 432, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 398, 414 y 433, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 589, 590 y 591, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 607, 608 y 591, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 302, 304 y 306, respectivamente; o una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 303, 305 y 307, respectivamente.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_L incluye una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 seleccionadas de: una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 26, 37 y 47, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 27, 38 y 48, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 28, 39 y 49, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 30, 39 y 51, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 31, 41 y 52, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 33, 43 y 55, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 34, 44 y 56, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 185, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 189, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 176, 181 y 190, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 177, 182 y 191, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 192, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 178, 183 y 193, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 178, 183 y 194, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 30, 399 y 415, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 380, 400 y 416, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 33, 43 y 421, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 381, 401 y 417, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 382, 402 y 418, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 589, 590 y 591, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 607, 608 y 591, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 302, 304 y 306, respectivamente; o una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que contienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 303, 305 y 307, respectivamente.

En algunas de cualquiera de dichas realizaciones, la región V_L es o incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 u 833-849. En algunos aspectos, la región V_L es o contiene la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 u 833-849.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_L contiene una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que incluyen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o la región V_L contiene una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que incluyen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente. En algunos casos, la región V_L es o incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 618.

En algunas de las realizaciones, la región V_H es o comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región V_H de cualquiera de las SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 u 814-832;

y la región V_L es o comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región V_L de cualquiera de las SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 u 833-849.

En algunas de las realizaciones, la región V_H es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 u 814-832; y la región V_L es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 u 833-849.

En algunas de las realizaciones, la región V_H es o comprende (a) una CDR-H1 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 593, 611, 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295, 507, 532, 596 o 604; (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 594, 612, 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 597 o 605; y (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 595, 613, 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 o 606; y la región V_L es o comprende (a) una CDR-L1 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 601, 614, 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 o 607; (b) una CDR-L2 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 602, 615, 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 o 608; y (c) una CDR-L3 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 603, 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433 o 591.

En algunas de cualquiera de dichas realizaciones, la región V_H y las regiones V_L incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 116, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 116, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 111 y 117, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 111 y 117, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 119, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 119, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 120, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 120, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 121, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 121, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 122, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 122, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 123, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 123, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 112 y 124, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 112 y 124, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 113 y 125, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 113 y 125, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 114 y 126, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 114 y 126, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 115 y 127, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 115 y 127, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 247 y 257, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 247 y 257, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 248 y 258, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 248 y 258, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 249 y 259, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 249 y 259, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 250 y 260, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 250 y 260, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 251 y 261, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 251 y 261, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 252 y 262, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 252 y 262, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 253 y 263, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 253 y 263, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 254 y 264, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 254 y 264, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta

en las SEQ ID NO: 255 y 265, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 255 y 265, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 256 y 266, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 256 y 266, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 256 y 267, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 256 y 267, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 518 y 534, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 518 y 534, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 519 y 535, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 519 y 535, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 115 y 536, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 115 y 536, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 520 y 264, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 520 y 264, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 521 y 537, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 521 y 537, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 522 y 538, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 522 y 538, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 523 y 539, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 523 y 539, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 519 y 540, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 519 y 540, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 524 y 541, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 524 y 541, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 525 y 261, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 525 y 261, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 526 y 542, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 526 y 542, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 527 y 543, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 527 y 543, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 528 y 544, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 528 y 544, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 529 y 545, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 529 y 545, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 528 y 546, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 528 y 546, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 522 y 547, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 522 y 547, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 256 y 548, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 256 y 548, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 530 y 549, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 530 y 549, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 531 y 550, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 531 y 550, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 519 y 552, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 519 y 552, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 553, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 553, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 533 y 554, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 533 y 554, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 115 y 555, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 115 y 555, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 524 y 556, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 524 y 556, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 519 y 557, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 519 y 557, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 609 y 610, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 609 y 610, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta

en las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 324 y 326, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 324 y 326, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 325 y 327, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 325 y 327, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 772 y 775, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 772 y 775, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 773 y 776, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 773 y 776, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 774 y 777, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 774 y 777, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 815 y 833, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 815 y 833, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 816 y 834, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 816 y 834, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 817 y 835, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 817 y 835, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 818 y 836, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 818 y 836, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 819 y 837, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 819 y 837, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 820 y 838, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 820 y 838, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 821 y 839, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 821 y 839, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 822 y 840, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 822 y 840, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 823 y 841, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 823 y 841, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 824 y 842, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 824 y 842, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 825 y 843, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 825 y 843, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 826 y 844, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 826 y 844, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 827 y 845, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 827 y 845, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 828 y 846, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 828 y 846, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 829 y 847, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 829 y 847, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 830 y 847, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 830 y 847, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 831 y 848, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 831 y 848, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 832 y 849, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 832 y 849, respectivamente.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_H y las regiones V_L codificadas por los polinucleótidos incluyen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 116, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 116, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 111 y 117, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 111 y 117, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 120, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 120, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 110 y 121, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 110 y 121, respectivamente; la región

V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 112 y 124, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 112 y 124, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 113 y 125, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 113 y 125, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 248 y 258, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 248 y 258, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 252 y 262, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 252 y 262, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 253 y 263, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 253 y 263, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 254 y 264, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 254 y 264, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 255 y 265, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 255 y 265, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 256 y 266, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 256 y 266, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 256 y 267, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 256 y 267, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 518 y 534, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 518 y 534, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 519 y 535, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 519 y 535, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 115 y 536, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 115 y 536, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 520 y 264, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 520 y 264, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 521 y 537, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 521 y 537, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 522 y 538, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 522 y 538, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 609 y 610, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 609 y 610, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 324 y 326, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 324 y 326, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 325 y 327, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 325 y 327, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 772 y 775, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 772 y 775, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 773 y 776, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 773 y 776, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 774 y 777, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 774 y 777, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 815 y 833, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 815 y 833, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 816 y 834, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 816 y 834, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 817 y 835, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 817 y 835, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 818 y 836, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 818 y 836, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 819 y 837, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 819 y 837, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 820 y 838, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 820 y 838, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 821 y 839, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 821 y 839, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 822 y 840, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 822 y 840, respectivamente; o la región V_H

y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 823 y 841, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 823 y 841, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 824 y 842, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 824 y 842, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 825 y 843, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 825 y 843, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 826 y 844, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 826 y 844, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 827 y 845, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 827 y 845, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 828 y 846, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 828 y 846, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 829 y 847, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 829 y 847, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 830 y 847, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 830 y 847, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 831 y 848, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 831 y 848, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 832 y 849, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 832 y 849, respectivamente.

En algunas de las realizaciones, la región V_H es o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 u 814-832; y la región V_L es o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 u 833-849.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, el fragmento incluye un scFv. En algunas realizaciones, la región V_H y la región V_L están unidas por un enlazador flexible. En algunas realizaciones, el scFv incluye un enlazador que contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 361). En algunas realizaciones, la región V_H es aminoterminal con respecto a la región V_L.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, el dominio de unión a antígeno incluye la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 o 769-771, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 o 769-771. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno incluye la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 o 585, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 o 585.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, el ácido nucleico que codifica el dominio de unión a antígeno incluye (a) la secuencia de nucleótidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 330-352, 647, 648, 716 o 718; (b) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO: 330-352, 647, 648, 716 o 718; o (c) una secuencia degenerada de (a) o (b). En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio de unión a antígeno incluye (a) la secuencia de nucleótidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 352, 647, 648, 716 o 718; (b) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO: 352, 647, 648, 716 o 718; o (c) una secuencia degenerada de (a) o (b). En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio de unión a antígeno tiene codones optimizados. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio de unión a antígeno incluye la secuencia de nucleótidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 440, 460, 715, 717 o 719. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio de unión a antígeno incluye la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 460.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región V_H es carboxiterminal con respecto a la región V_L. En algunas realizaciones, el scFv incluye la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 328 o 586, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 328 o 586.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región de señalización intracelular incluye un dominio de señalización citoplasmática activador. En algunas realizaciones, el dominio de señalización citoplasmática activador es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) y/o incluye un motivo de activación inmunorreceptor a base de

tirosina (ITAM). En algunas realizaciones, el dominio de señalización citoplasmática activador es o incluye un dominio de señalización citoplasmática de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de la misma. En algunas realizaciones, el dominio citoplasmático activador es humano o deriva de una proteína humana. En algunas realizaciones, el dominio citoplasmático activador es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 628 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 628.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, el ácido nucleico que codifica el dominio citoplasmático activador es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 627 o es una secuencia con codones optimizados y/o una secuencia degenerada de la misma. En otras realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio de señalización citoplasmática activador es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 652.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, la región de señalización intracelular incluye además una región de señalización coestimuladora. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora incluye un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora de linfocitos T o una porción de señalización de la misma. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora incluye un dominio de señalización intracelular de un CD28, un 4-1BB o un ICOS o una porción de señalización de los mismos. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora incluye un dominio de señalización intracelular de 4-1BB. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora es humana o deriva de una proteína humana. En otras realizaciones, la región de señalización coestimuladora es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 626 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 626.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, el ácido nucleico que codifica la región coestimuladora es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 625 o es una secuencia con codones optimizados y/o una secuencia degenerada de la misma. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica la región de señalización coestimuladora incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 681. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora está entre el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana es o incluye un dominio transmembrana derivado de CD4, CD28 o CD8. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana es o incluye un dominio transmembrana derivado de un CD28. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana es humano o deriva de una proteína humana. En otras realizaciones, el dominio transmembrana es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 624 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 624.

En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, el ácido nucleico que codifica el dominio transmembrana es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 623 o es una secuencia con codones optimizados y/o una secuencia degenerada de la misma. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio transmembrana incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 688. En algunas realizaciones de cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, el receptor de antígeno quimérico codificado incluye de su extremo N al C en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio transmembrana y el dominio de señalización intracelular.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 751-756 o una secuencia que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 751-756 y el receptor codificado conserva la función de unirse a BCMA y conserva la heterogeneidad del ARN reducida. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 755 y 756 o una secuencia que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 755 y 756 y el receptor codificado conserva la función de unirse a BCMA y conserva la heterogeneidad del ARN reducida. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 755 o una secuencia que presenta al menos o al menos aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la misma y el receptor codificado conserva la función de unirse a BCMA y conserva la heterogeneidad del ARN reducida. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el polinucleótido comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 755 y el receptor codificado conserva la función de unirse a BCMA y conserva la heterogeneidad del ARN reducida.

En algunas realizaciones, el polinucleótido codifica además un receptor truncado

También se proporcionan vectores que comprenden cualquiera de los polinucleótidos de la invención. En algunas de las realizaciones, el vector es un vector vírico. En algunas de las realizaciones, el vector vírico es un vector retrovírico. En algunas de las realizaciones, el vector vírico es un vector lentivírico.

En algunas realizaciones se proporcionan células modificadas por ingeniería que contienen un polinucleótido de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones de cualquiera de las células modificadas por ingeniería descritas en el presente documento, la célula modificada por ingeniería contiene el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones de cualquiera de las células modificadas por ingeniería descritas en el presente documento, la célula es una célula inmunitaria. En algunas realizaciones, la célula inmunitaria es una célula primaria obtenida de un sujeto. En algunas realizaciones, la célula inmunitaria es una célula NK o un linfocito T. En algunas realizaciones, la célula inmunitaria es un linfocito T y el linfocito T es un linfocito T CD4+ y/o CD8+.

En algunas realizaciones de cualquiera de las células modificadas por ingeniería descritas en el presente documento, la célula contiene ARN transcrito que codifica el receptor de antígeno quimérico, opcionalmente ARN mensajero (ARNm), que presenta al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de homogeneidad del ARN. En algunas realizaciones, la célula contiene ARN transcrito que codifica el receptor de antígeno quimérico, opcionalmente ARN mensajero (ARNm), que presenta una heterogeneidad reducida en comparación con la heterogeneidad del ARNm transcrito en una célula que codifica un receptor de antígeno quimérico de referencia, dicho receptor de antígeno quimérico de referencia que contiene la misma secuencia de aminoácidos que el receptor de antígeno quimérico pero codificado por una secuencia polinucleotídica diferente que contiene una o más diferencias de nucleótidos en el polinucleótido que codifica los CAR y/o en el que el receptor de antígeno quimérico de referencia está codificado por un polinucleótido que contiene uno o más sitios donantes de corte y empalme y/o uno o más sitios aceptores de corte y empalme en el ácido nucleico que codifica el espaciador. En algunas realizaciones, la heterogeneidad del ARN se reduce en más de o más de aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más. En algunas realizaciones, la célula que codifica el CAR de referencia incluye ARN transcrito que codifica el CAR de referencia, opcionalmente ARN mensajero (ARNm), que presenta más de o más de aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más de heterogeneidad del ARN. En algunas realizaciones, la homogeneidad y/o heterogeneidad del ARN se determina mediante electroforesis en gel de agarosa, electroforesis capilar basada en chip, ultracentrifugación analítica, fraccionamiento de flujo de campo o cromatografía de líquidos.

En algunas realizaciones de cualquiera de las células modificadas por ingeniería descritas en el presente documento, entre una pluralidad de las células modificadas por ingeniería, menos de o menos de aproximadamente el 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % y/o 1 % de las células de la pluralidad contienen un receptor de antígeno quimérico que presenta señalización tónica y/o actividad o señalización independiente de antígeno.

También se proporcionan composiciones que comprenden cualquiera de las células modificadas por ingeniería de la invención. En algunas de cualquiera de dichas realizaciones, la composición comprende linfocitos T CD4+ y CD8+ y la relación de linfocitos T CD4+ a CD8+ es de o de aproximadamente 1:3 a 3:1.

En el presente documento también se proporcionan composiciones que contienen un polinucleótido de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento o una célula modificada por ingeniería de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la composición contiene además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En alguna cualquiera de estas realizaciones, la composición es estéril.

Cualesquier referencias en el presente documento a métodos de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia se refiere a sustancias o composiciones para su uso en dichos métodos. En otros aspectos, se proporcionan métodos de tratamiento que implican administrar las células modificadas por ingeniería de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento o la composición de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento a un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno. En algunas de las realizaciones, el método comprende administrar una dosis de células modificadas por ingeniería o una composición que comprende una dosis de las células modificadas por ingeniería.

También se proporcionan usos de cualquiera de las células modificadas por ingeniería o las composiciones descritas en el presente documento para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno. También se proporcionan usos de cualquiera de las células modificadas por ingeniería o las composiciones descritas en el presente documento para tratar una enfermedad o trastorno. En algunas de cualquiera de dichas realizaciones, las células modificadas o la composición son para su uso en una pauta de tratamiento, en donde la pauta de tratamiento comprende administrar una dosis de las células modificadas por ingeniería o una composición que comprende una dosis de las células modificadas por ingeniería.

En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, la enfermedad o trastorno se asocia a la expresión del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA). En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno asociado a BCMA es un trastorno relacionado con los linfocitos B. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno asociado a BCMA es una enfermedad o trastorno autoinmunitario. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno autoinmunitario es lupus eritematoso sistémico (LES), nefritis lúpica, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide, vasculitis asociada a ANCA, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), trombocitopenia autoinmunitaria, enfermedad de Chagas, enfermedad de Grave, granulomatosis de Wegener, poliarteritis nodosa, síndrome de Sjögren, pénfigo vulgar, esclerodermia, esclerosis múltiple, psoriasis,

nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, vasculitis, diabetes mellitus, síndrome de Raynaud, síndrome antifosfolipídico, enfermedad de Goodpasture, enfermedad de Kawasaki, anemia hemolítica autoinmunitaria, miastenia grave o glomerulonefritis progresiva.

En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, la enfermedad o trastorno asociado a BCMA es un cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer que expresa BCMA. En algunas realizaciones, el cáncer es una neoplasia maligna de linfocitos B. En algunas realizaciones, el cáncer es un linfoma, una leucemia o una neoplasia maligna de células plasmáticas. En algunas realizaciones, el cáncer es un linfoma y el linfoma es linfoma de Burkitt, linfoma no Hodgkin (LNH), linfoma de Hodgkin, macroglobulinemia de Waldenstrom, linfoma folicular, linfoma de células pequeñas no escindidas, linfoma de tejido linfático asociado a mucosas (MALT), linfoma de la zona marginal, linfoma esplénico, linfoma ganglionar de linfocitos B monocitoides, linfoma inmunoblástico, linfoma macrocítico, linfoma difuso de células mixtas, linfoma angiocéntrico pulmonar de linfocitos B, linfoma linfocítico pequeño, linfoma mediastínico primario de linfocitos B, linfoma linfoplasmocítico (LLP) o linfoma de células del manto (LCM). En algunas realizaciones, el cáncer es una leucemia y la leucemia es leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia de células plasmáticas o leucemia linfocítica aguda (LLA). En algunas realizaciones, el cáncer es una neoplasia maligna de células plasmáticas y la neoplasia maligna de células plasmáticas es mieloma múltiple (MM) o plasmacitoma. En algunas realizaciones, el cáncer es mieloma múltiple (MM).

En algunas de las realizaciones, la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería comprende entre 1×10^7, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR y 2×10^9, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las realizaciones, la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería comprende entre $2,5 \times 10^7$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR y $1,2 \times 10^9$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR, entre $5,0 \times 10^7$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR y $4,5 \times 10^8$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR o entre $1,5 \times 10^8$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR y $3,0 \times 10^8$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las realizaciones, la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería comprende $2,5 \times 10^7$, o aproximadamente, $5,0 \times 10^7$, o aproximadamente, $1,5 \times 10^8$, o aproximadamente, $3,0 \times 10^8$, o aproximadamente, $4,5 \times 10^8$, o aproximadamente, $8,0 \times 10^8$, o aproximadamente, o $1,2 \times 10^9$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las realizaciones, la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería comprende $5,0 \times 10^7$, o aproximadamente, $1,5 \times 10^8$, o aproximadamente, $3,0 \times 10^8$, o aproximadamente, o $4,5 \times 10^8$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las realizaciones, la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería comprende una combinación de linfocitos T $CD4^+$ y linfocitos T $CD8^+$, en una relación definida de linfocitos T $CD4^+$ que expresan CAR a linfocitos T $CD8^+$ que expresan CAR y/o de linfocitos T $CD4^+$ a linfocitos T $CD8^+$, que es de 1:1, o aproximadamente, o es de entre aproximadamente 1:3 y aproximadamente 3:1.

En algunas de las realizaciones, menos de aproximadamente el 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % de los linfocitos T que expresan CAR en la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería expresan un marcador de apoptosis, opcionalmente Anexina V o Caspasa 3 activa. En algunas de las realizaciones, menos del 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % de los linfocitos T que expresan CAR en la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería expresan Anexina V o Caspasa 3 activa.

En algunas de las realizaciones, antes de la administración, el sujeto ha recibido una terapia de linfoagotamiento que comprende la administración de fludarabina a 20-40 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, opcionalmente a 30 mg/m^2, o aproximadamente, a diario, durante 2-4 días, y/o ciclofosfamida a 200-400 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, opcionalmente a 300 mg/m^2, o aproximadamente, a diario, durante 2-4 días.

En algunas de las realizaciones, el sujeto ha recibido una terapia de linfoagotamiento que comprende la administración de fludarabina a 30 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, a diario, y ciclofosfamida a 300 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, a diario, durante 3 días.

En algunas de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recibido tres o más terapias seleccionadas de entre: trasplante autólogo de células madre (TACM); un agente inmunomodulador; un inhibidor del proteasoma; y un anticuerpo anti-CD38.

En algunas de las realizaciones, el agente inmunomodulador se selecciona de talidomida, lenalidomida o pomalidomida. En algunas de las realizaciones, el inhibidor del proteasoma se selecciona de entre bortezomib, carfilzomib o ixazomib. En algunas de las realizaciones, el anticuerpo anti-CD38 es o comprende daratumumab.

En algunas de las realizaciones, a la administración de la dosis de células, el sujeto no ha tenido leucemia de células plasmáticas (LCP) activa ni antecedentes de la misma.

En algunas de las realizaciones, cuando se administra a los sujetos, la dosis o la composición es capaz de conseguir una respuesta objetiva (RO), en al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 95 % de los sujetos que la recibieron. En algunas de las realizaciones, la RO incluye a los sujetos que consiguen una respuesta completa estricta (RCe), respuesta completa (RC), respuesta parcial muy buena (RPMB), respuesta parcial (RP) y respuesta mínima (RM). En algunas de las realizaciones, cuando se administra a los sujetos, la dosis o la composición es capaz de conseguir una

respuesta completa estricta (RCe), respuesta completa (RC), respuesta parcial muy buena (RPMB) o respuesta parcial (RP), en al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 % u 85 % de los sujetos que la recibieron. En algunas de las realizaciones, cuando se administra a los sujetos, la dosis o la composición es capaz de conseguir una respuesta completa estricta (RCs) o una respuesta completa (RC) de al menos el 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 % o 70 % de los sujetos que la recibieron.

En algunas de las realizaciones, la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería comprende 5,0 x 10^7, o aproximadamente, 1,5 x 10^8, o aproximadamente, 3,0 x 10^8, o aproximadamente, o 4,5 x 10^8, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las realizaciones, la dosis de los linfocitos T modificados por ingeniería comprende 5,0 x 10^7, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR.

Breve descripción de los dibujos

Las **FIG. 1A** y **1B** representan los resultados de un ensayo que evalúa la heterogeneidad del ARN mediante electroforesis en gel de agarosa. La **FIG. 1A** representa la heterogeneidad del ARN de varios anti-BCMA-CAR, que contienen una región espaciadora larga (LS, por sus siglas en inglés) o una región espaciadora CD28 más corta. La **FIG. 1B** representa la heterogeneidad del ARN de tres secuencias diferentes que codifican CAR anti-BCMA, que contienen la región espaciadora larga (LS), antes y después de la optimización de la secuencia codificante y la eliminación de sitios de corte y empalme (O/SSE, por sus siglas en inglés).

La **FIG. 2** representa los resultados de un ensayo que evalúa los niveles de expresión de CAR de BCMA-LS en la superficie de linfocitos T transducidos antes (Sin SSE) y después (O/SSE) de la optimización y la eliminación de sitios de corte y empalme de la secuencia codificante.

La **FIG. 3** representa la comparación de la eficacia de transducción de vectores lentivíricos que codifican construcciones de CAR de BMCA-LS y vectores lentivíricos que codifican construcciones de CAR de BCMA-LS cuyos codones se han optimizado y se han modificado para eliminar los sitios de corte y empalme previstos (O/SSE).

La **FIG. 4A** representa los resultados de un ensayo que evalúa la actividad citolítica de los linfocitos T que expresan CAR de BMCA-LS frente a estirpes celulares que expresan niveles altos (K562BCMA) o bajos (RPMI 8226) de BCMA en varias relaciones efector:célula diana (E:T). La **FIG. 4B** representa la actividad citolítica de varios linfocitos T que expresan CAR de BMCA-LS frente a células RPMI-8226 en una relación E:T de 3:1. La **FIG. 4C** y la **FIG. 4D** representan la actividad citolítica de linfocitos T que expresan CAR de BCMA-LS sin optimizar y linfocitos T que expresan CAR de BCMA-LS optimizados (O/SSE) en diversas estirpes celulares que expresan BCMA.

La **FIG. 5A** muestra los resultados de un ensayo que evalúa la liberación de citocinas IFNγ, IL-2 y TNFα de linfocitos T que expresan CAR de eBMCA-LS en respuesta a la incubación con estirpes celulares que expresan niveles altos (K562BCMA) o bajos (RPMI 8226) de BCMA en varias relaciones efector:célula diana (E:T) (5:1, 2,5:1, 1,25:1 y 0,6:1 indicadas como a, b, c y d, respectivamente, en la figura). **FIG. 5B** representa la liberación de citocinas IFNγ, IL-2 y TNFα de linfocitos T que expresan CAR de eBMCA-LS sin optimizar y linfocitos T que expresan CAR BCMA-LS optimizados (O/SSE) en respuesta a la incubación con células K562/BCMA y RPMI 8226 que expresan BCMA en diferentes relaciones E:T (3:1, 1,5:1, 0,75:1 y 0,375:1 indicadas como a, b, c y d, respectivamente, en la figura).

La **FIG. 6** representa los resultados de un ensayo que evalúa la actividad citolítica después de la incubación de linfocitos T que expresan CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, de dos donantes, con células que expresan BCMA que expresan niveles variables de BCMA.

La **FIG. 7** representa los resultados de un ensayo que evalúa la liberación de IFNγ después de la incubación de linfocitos T que expresan CAR de BCMA-55-LS O/SSE, de dos donantes, con células que expresan BCMA que expresan niveles variables de BCMA.

La **FIG. 8** representa los resultados de un ensayo que evalúa la actividad citolítica de linfocitos T CAR que expresan anti-BCMA que expresan CAR que contienen diferentes regiones espaciadoras, en las células diana OPM2.

Las **FIG. 9A** y **9B** representan resultados de un ensayo que evalúa la actividad citolítica de linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA después de la incubación de linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA con células diana OPM2 en presencia de BCMA soluble-Fc.

La **FIG. 10A** representa los resultados de un ensayo que evalúa la actividad citolítica de linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA optimizados (O/SSE) en presencia de sobrenadante de la estirpe celular de mieloma múltiple H929. La **FIG. 10B** representa los resultados de un ensayo que evalúa la actividad citolítica de linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA optimizados (O/SSE) en presencia de factor activador de linfocitos B recombinante (BAFF).

Las **FIG. 11A** y **11B** representan los resultados de un ensayo que evalúa la liberación de citocinas IFNγ, IL-2 y TNFα después de la incubación de linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA con células diana OPM2 en presencia de BCMA soluble-Fc **(FIG. 11A)** o sobrenadante de una estirpe celular de mieloma múltiple H929 **(FIG. 11B)** a diferentes concentraciones (0 ng/ml, 111 ng/ml, 333 ng/ml y 1000 ng/ml indicadas como a, b, c y d, respectivamente, en las figuras).

La **FIG. 12A** representa los resultados de un ensayo que evalúa el crecimiento tumoral en un modelo en ratón de xenoinjerto de mieloma múltiple humano OPM2, después de una única inyección intravenosa de linfocitos T CAR que expresan CAR anti-BCMA optimizados (O/SSE). La **FIG. 12B** representa los resultados de un ensayo que evalúa la supervivencia en un modelo en ratón de xenoinjerto de mieloma múltiple humano OPM2, después de una única inyección intravenosa de linfocitos T CAR que expresan CAR anti-BCMA optimizados (O/SSE).

La **FIG. 13A** representa los resultados de un ensayo que evalúa el crecimiento tumoral en un modelo en ratón de

xenoinjerto de RPMI-8226 (subcutáneo), después de una única inyección intravenosa de linfocitos T CAR que expresan CAR anti-BCMA optimizados (O/SSE). La **FIG. 13B** representa la supervivencia en un modelo en ratón de xenoinjerto de RPMI-8226 (subcutáneo), después de una única inyección intravenosa de linfocitos T CAR que expresan CAR anti-BCMA optimizados (O/SSE).

Las **FIG. 14A** y **14B** representan los resultados de un ensayo que evalúa el número de linfocitos T positivos para CAR CD4+ **(FIG. 14A)** y CD8+ **(FIG. 14B)** en la sangre de ratones con xenoinjerto de RPMI-8226 (subcutáneo) tratados con linfocitos T CAR anti-BCMA optimizados (O/SSE) derivados de un único donante (Donante 2).

Las **FIG. 15A** y **15B** representan los resultados de un ensayo que evalúa el número de linfocitos T positivos para CAR CD4+ **(FIG. 15A)** y CD8+ **(FIG. 15B)** en la sangre de ratones con xenoinjerto de RPMI-8226 (subcutáneo) tratados con linfocitos T CAR anti-BCMA optimizados (O/SSE) derivados de un único donante (Donante 1).

La **FIG. 16A** representa los resultados de un ensayo que evalúa el nivel de expresión de tdTomato y un receptor truncado (marcador indirecto para la expresión de CAR), como se detecta mediante citometría de flujo, en células que expresan CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, incubadas durante 6 horas en placas de cultivo celular de 96 pocillos recubiertas durante la noche con (0,008 µg/ml, 0,04 µg/ml, 0,2 µg/ml, 1 µg/ml y 5 µg/ml) del polipéptido de fusión BCMA-Fc (BCMA humana soluble fusionado en su extremo C a una región Fc de IgG). Se usó un polipéptido Fc recombinante como control (Control de Fc).

La **FIG. 16B** representa los resultados de un ensayo que evalúa el porcentaje de células tdTomato+ entre las células que expresan el receptor truncado, en células indicadoras que expresan CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, CAR de BCMA-23-LS-O/SSE y CAR de BCMA-25-LS-O/SSE, incubadas con diez (10) diluciones en serie dobles de BCMA-Fc. Como control se usaron células que expresaban un CAR específico para un antígeno diferente (CAR anti-CD19).

La **FIG. 17** representa el porcentaje de células tdTomato+ entre las células indicadoras que expresan CAR de BCMA-55-LS-O/SSE o CAR de BCMA-55-SS, después del cocultivo con células diana K562 que expresan BCMA humana (BCMA.K562) en diversas relaciones E:T.

La **FIG. 18** representa el nivel de expresión de tdTomato y GFP (marcador indirecto para la expresión de CAR), como se detecta mediante citometría de flujo, en células indicadoras que expresan un CAR anti-CD19, CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, CAR de BCMA-23-LS-O/SSE o CAR de BCMA-52-LS-O/SSE, incubadas sin estimulación antigénica para evaluar el grado de señalización independiente de antígeno (tónica) durante 3 días.

Las **FIG. 19A** y **19B** representan el nivel de expresión de tdTomato y receptor truncado (marcador indirecto para la expresión de CAR), como se detecta mediante citometría de flujo, en células indicadoras que expresan un CAR anti-CD19, CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, CAR de BCMA-23-LS-O/SSE o CAR de BCMA-52-LS-O/SSE que contienen dominios intracelulares derivados de 4-1BB o CD28 incubados sin estimulación antigénica para evaluar el grado de señalización independiente de antígeno (tónica).

La **FIG. 20A** representa el porcentaje de células tdTomato+, evaluado mediante citometría de flujo, entre las células indicadoras Nur77-tdTomato modificadas por ingeniería para expresar CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, específicas para BCMA humana, cocultivadas con células de leucemia mielógena humana K562 que expresan BCMA humana (huBCMA), BCMA murino (muBCMA) o BCMA de macaco cangrejero (cynoBCMA), en una relación E:T de 2:1 o 5:1. Las FIG. 20B y 20C representan el porcentaje **(FIG. 20B)** y la intensidad de fluorescencia media (IFM; FIG. 20C) de células tdTomato+, evaluado mediante citometría de flujo, entre las células indicadoras que expresan CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, incubadas con concentraciones crecientes (0, 0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 y 100 µg/ml) de huBCMA y cynoBCMA aplicadas como recubrimiento en placas de fondo plano de 96 pocillos.

La **FIG. 21A** representa una estrategia de amplificación de ejemplo para un transcrito y un producto amplificado previsto. La **FIG. 21B** representa productos amplificados de ejemplo resultantes de la amplificación de un transcrito conocido y sitios de corte y empalme desconocidos (crípticos). La **FIG. 21C** representa la amplificación de ventana de deslizamiento de ejemplo de un transcrito usando pares de cebadores anidados.

Descripción detallada

La divulgación técnica que se expone a continuación puede, en algunos aspectos, ir más allá del alcance de las reivindicaciones. Los elementos de la divulgación que no se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones se proporcionan a título informativo.

Entre las realizaciones divulgadas se encuentran composiciones, compuestos, métodos y usos que incluyen aquellos dirigidos a BCMA y células que expresan BCMA y enfermedades. Se observa que BCMA se expresa, por ejemplo, se expresa heterogéneamente, en determinadas enfermedades y afecciones tales como neoplasias malignas o tejidos o células de las mismas, por ejemplo, en células plasmáticas malignas tales como las de todos los pacientes con mieloma en recaída o recién diagnosticados, por ejemplo, con escasa expresión en tejidos normales. Entre las realizaciones divulgadas se encuentran enfoques útiles en el tratamiento de dichas enfermedades y afecciones y/o para dirigirse a dichos tipos celulares, incluyendo moléculas de ácido nucleico que codifican receptores de unión a BCMA, incluyendo receptores de antígenos quiméricos (CAR) y los CAR codificados, y composiciones que comprenden los mismos. Los receptores contienen fragmentos de anticuerpos de unión a antígenos, tales como regiones variables de cadena pesada (V_H), fragmentos de anticuerpo de dominio único y fragmentos monocatenarios, incluyendo scFv específicos para BCMA. También se divulgan células, tales como células modificadas por ingeniería o recombinantes que expresen dichos CAR anti-BCMA y/o que contienen ácidos nucleicos que codifican dichos receptores, y composiciones y dosis terapéuticas que contienen dichas células. También se describen métodos de

evaluación, optimización, fabricación y uso de una o más secuencias de ácido nucleico, por ejemplo, secuencias de ácido nucleico que codifican receptores de unión a BCMA recombinantes. También se describen métodos de fabricación y uso (tal como en el tratamiento o la mejora de enfermedades y afecciones que expresan BCMA) de células (por ejemplo, células modificadas por ingeniería) que expresan o que contienen los receptores de unión a BCMA recombinantes y polinucleótidos que codifican receptores de unión a BCMA recombinantes o composiciones que contienen dichas células.

Las terapias celulares adoptivas (incluyendo aquellas que implican la administración de células que expresan receptores quiméricos específicos para una enfermedad o trastorno de interés, tales como receptores de antígenos quiméricos (CAR) y/u otros receptores de antígenos recombinantes, así como otras terapias de células inmunitarias adoptivas y linfocitos T adoptivos) pueden ser eficaces en el tratamiento del cáncer y otras enfermedades y trastornos. En determinados contextos, los enfoques disponibles para la terapia celular adoptiva no siempre son del todo satisfactorios. En algunos aspectos, la capacidad de las células administradas para el reconocimiento y la unión al antígeno diana BCMA, para el tráfico, la localización y la entrada satisfactoria en los sitios adecuados dentro del sujeto, tumores y entornos de los mismos, para activarse, expandirse, para ejercer diversas funciones efectoras, incluyendo la muerte citotóxica y la secreción de diversos factores tales como citocinas, para persistir, incluyendo a largo plazo, para diferenciarse, para transicionar o reprogramarse hacia determinados estados fenotípicos para proporcionar respuestas de recuerdo eficaces y robustas después del aclaramiento y la reexposición al ligando o antígeno diana, y evitar o reducir el agotamiento, la anergia, la diferenciación terminal y/o la diferenciación hacia un estado supresor.

En algunos contextos, la respuesta óptima al tratamiento puede depender de la capacidad de los CAR modificados por ingeniería, para expresarse de forma uniforme y fiable en la superficie de las células y/o unirse al antígeno diana. Por ejemplo, en algunos casos, la heterogeneidad del ARN transcrito de un transgén introducido (por ejemplo, que codifica el receptor recombinante) puede afectar a la expresión y/o la actividad del receptor recombinante, en algunos casos cuando se expresa en una célula, tal como un linfocito T humano, utilizado en terapia celular. En algunos contextos, la longitud y el tipo de espaciador en el CAR pueden afectar a la expresión, la actividad y/o la función del receptor.

Además, en algunos contextos, determinados receptores recombinantes pueden presentar una actividad o señalización independiente de antígeno (también conocida como "señalización tónica"), lo que podría conducir a efectos no deseables, tales como debidos a una mayor diferenciación y/o agotamiento de los linfocitos T que expresan el receptor recombinante. En algunos aspectos, dichas actividades pueden limitar la actividad, el efecto o la potencia de los linfocitos T. En algunos casos, durante la modificación por ingeniería y la expansión *ex vivo* de las células para la expresión de receptores recombinantes, las células pueden presentar fenotipos indicativos de agotamiento, debido a la señalización tónica a través del receptor recombinante.

En algunos contextos, las propiedades de los antígenos diana particulares a los que los receptores recombinantes se unen, reconocen o se dirigen como diana, pueden afectar a la actividad del receptor. En algunos contextos, el antígeno de maduración de células B (BCMA), se expresa normalmente en las células plasmáticas malignas y es una diana terapéutica atractiva para la terapia celular. En algunos casos, el BCMA puede ser escindido por la gamma secretasa, generando una BCMA soluble (sBCMA) o forma "desprendida" de BCMA, reduciendo el BCMA expresado en la superficie de las células diana. En algunos casos, la actividad de los receptores de antígenos quiméricos anti-BCMA puede ser bloqueada o inhibida por la presencia de BCMA soluble. Se necesitan estrategias mejoradas para obtener respuestas óptimas a las terapias celulares, en particular, para receptores recombinantes que se unen, reconocen o se dirigen específicamente a BCMA.

Las realizaciones divulgadas, en algunos contextos, se basan en la observación de que los espaciadores particulares y la optimización de las secuencias de ácido nucleico pueden conducir a una expresión uniforme y robusta del receptor de antígeno quimérico. Los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA divulgados ofrecen ventajas sobre los enfoques disponibles para terapias celulares, en particular, la terapia celular dirigida a BCMA. En algunas realizaciones, se ha observado que los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA divulgados presentan una independencia de antígeno reducida, señalización tónica y ausencia de inhibición por BCMA soluble. En diversos aspectos, los receptores recombinantes de antígenos quiméricos de unión a BCMA divulgados, los polinucleótidos que codifican dichos receptores, las células modificadas por ingeniería y las composiciones celulares, presentan determinadas propiedades deseadas que pueden superar o contrarrestar determinadas limitaciones que pueden reducir las respuestas óptimas a la terapia celular, por ejemplo, la terapia celular con células modificadas por ingeniería que expresan un receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA. En algunos aspectos, se observó que las composiciones que contenían células modificadas por ingeniería que expresaban un receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA de ejemplo divulgado en el presente documento presentaban una salud celular constante de las células modificadas por ingeniería y se asociaba a una respuesta clínica. En algunos contextos, las realizaciones divulgadas, incluidos los receptores de antígenos quiméricos, los polinucleótidos que codifican dichos receptores, las células modificadas por ingeniería y las composiciones celulares, pueden proporcionar diversas ventajas sobre las terapias disponibles dirigidas a BCMA, para mejorar la actividad de los receptores de antígenos quiméricos y la respuesta a las terapias celulares dirigidas a BCMA.

I. RECEPTORES DE UNIÓN A BCMA Y POLINUCLEÓTIDOS CODIFICANTES

En algunos aspectos se divulgan receptores de antígenos quiméricos que se unen o reconocen moléculas de BCMA y polinucleótidos que codifican receptores de antígenos quiméricos (CAR) que se unen a BCMA, y células que expresan dichos receptores. Los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA contienen fragmentos de anticuerpos de unión a antígenos y/u otros péptidos de unión que reconocen específicamente, tal como se unen específicamente a BCMA, tal como a proteínas BCMA, tal como a la proteína BCMA humana. En algunos aspectos, los receptores de antígenos quiméricos se unen a una porción extracelular de BCMA.

En algunas realizaciones, los polinucleótidos están optimizados, o contienen determinadas características diseñadas para su optimización, tal como para el uso de codones, para reducir la heterogeneidad del ARN y/o modificar, por ejemplo, aumentar o hacer más uniformes los lotes de productos celulares, la expresión, tal como la expresión en superficie, del receptor codificado. En algunas realizaciones, los polinucleótidos, que codifican receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, se modifican en comparación con un polinucleótido de referencia, tal como para eliminar los sitios de corte y empalme crípticos u ocultos, para reducir la heterogeneidad del ARN. En algunas realizaciones, los polinucleótidos, que codifican receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, tienen codones optimizados, tal como para la expresión en una célula de mamífero, por ejemplo, humana, tal como en un linfocito T humano. En algunas realizaciones, los polinucleótidos modificados dan como resultado una mejora, por ejemplo, un aumento o un nivel más uniforme o más coherente de expresión, por ejemplo, expresión en superficie, cuando se expresan en una célula. Dichos polinucleótidos pueden usarse en construcciones para la generación de células modificadas por ingeniería que expresen el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA codificado. Por lo tanto, también se divulgan células que expresan los receptores de antígenos quiméricos codificados por los polinucleótidos divulgados en el presente documento y usos de las mismas en terapia celular adoptiva, tal como el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados a la expresión de BCMA.

Los polinucleótidos divulgados son aquellos que codifican receptores de antígenos quiméricos, que reconocen específicamente, tal como se unen específicamente, a BCMA. En algunos aspectos, también se divulgan polipéptidos de unión a BCMA que contienen receptores de antígenos quiméricos codificados, y composiciones y usos de los mismos.

Entre los polipéptidos de unión a BCMA descritos en el presente documento se encuentran los anticuerpos, tales como anticuerpos monocatenarios (por ejemplo, fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno), o porciones de los mismos. En algunos ejemplos, los receptores recombinantes son receptores de antígenos quiméricos, tales como aquellos que contienen anticuerpos anti-BCMA o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En cualquiera de las realizaciones, un fragmento de unión a antígeno, en los CAR divulgados, que reconoce específicamente un antígeno, BCMA, se une específicamente al antígeno. Los polinucleótidos divulgados pueden incorporarse a construcciones, tales como construcciones de ácido desoxirribonucleico (ADN) o de ARN, tales como aquellos que pueden introducirse en las células para la expresión de los receptores de unión a BCMA recombinantes codificados.

En algunos casos, el polinucleótido que codifica el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA contiene una secuencia señal que codifica un péptido señal, en algunos casos codificada en dirección 5' de las secuencias de ácido nucleico que codifican el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA, o unida en el extremo 5' de las secuencias de ácido nucleico que codifican el dominio de unión a antígeno. En algunos casos, el polinucleótido que contiene secuencias de ácido nucleico que codifican el receptor de antígeno quimérico (CAR) de unión a BCMA, contiene una secuencia señal que codifica un péptido señal. En algunas realizaciones, la secuencia señal puede codificar un péptido señal derivado de un polipéptido nativo. En otras realizaciones, la secuencia señal puede codificar un péptido señal heterólogo o no nativo. En algunas realizaciones, el péptido señal de ejemplo no limitante incluye un péptido señal de la cadena kappa de IgG expuesto en la SEQ ID NO: 620, o codificado por la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 619 o 682-685; una cadena alfa GMCSFR expuesta en la SEQ ID NO: 851 y codificada por la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 850; un péptido señal de CD8 alfa expuesto en la SEQ ID NO: 852; o un péptido señal de CD33 expuesto en la SEQ ID NO: 853. En algunos casos, el polinucleótido que codifica el receptor de unión a BCMA puede contener una secuencia de ácido nucleico que codifica moléculas adicionales, tales como un marcador indirecto u otros marcadores, o puede contener componentes adicionales, tales como promotores, elementos reguladores y/o elementos multicistrónicos. En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico que codifica el receptor de unión a BCMA puede unirse operativamente a cualquiera de los componentes adicionales.

A. Componentes de los receptores de unión a BCMA recombinantes codificados

Los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA divulgados contienen generalmente una molécula de unión extracelular y un dominio de señalización intracelular.

. Los receptores de antígenos quiméricos divulgados en el presente documento se unen específicamente a BCMA o lo reconocen específicamente, tales como receptores de antígenos quiméricos que contienen los fragmentos de unión a antígenos anti-BCMA divulgados. También se divulgan células que expresan los receptores de antígenos quiméricos y usos de los mismos en terapia celular adoptiva, tal como el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados a la expresión de BCMA.

Los receptores de antígenos de ejemplo, incluyendo los CAR, y los métodos para modificar por ingeniería e introducir dichos receptores en células, incluyen aquellos descritos, por ejemplo, en las publicaciones de solicitud de patente internacionales N.º WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013166321, WO2013071154, WO2013123061, las publicaciones de solicitud de patente de los EE. UU. N.º US2002131960, US2013287748, US20130149337, las Patentes de los EE. UU. N.º 6.451.995, 7.446.190, 8.252.592, 8.339.645, 8.398.282, 7.446.179, 6.410.319, 7.070.995, 7.265.209, 7.354.762, 7.446.191, 8.324.353 y 8.479.118, y la solicitud de patente europea N.º EP2537416, y/o aquellos descritos por Sadelain *et al.*, Cancer Discov. abril de 2013; 3(4): 388-398; Davila *et al.* (2013) PLoS ONE 8(4): e61338; Turtle *et al.*, Curr. Opin. Immunol., octubre de 2012; 24(5): 633-39; Wu *et al.*, Cancer, 18 de marzo de 2012 (2): 160-75. En algunos aspectos, los receptores de antígeno incluyen un CAR como se describe en la Patente de los EE. UU. N.º 7.446.190, y aquellos descritos en la Publicación de solicitud de patente internacional N.º WO2014055668. Los CAR de ejemplo incluyen CAR como se divulgan en cualquiera de las publicaciones mencionadas anteriormente, tales como los documentos WO2014031687, US 8339645, US 7446179, US 2013/0149337, US 7.446.190. y US 8.389.282, y en los que la porción de unión a antígeno, por ejemplo, scFv, se reemplaza por un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, como se divulga en el presente documento.

En algunas realizaciones, el CAR divulgado tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 757-762, o presenta al menos o aproximadamente al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 757-762. En algunas realizaciones, el CAR divulgado es codificado por un polinucleótido, tal como un polinucleótido con la secuencia de ácido nucleico expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 751-756, o una secuencia que presenta al menos o al menos aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de ácido nucleico expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 751-756.

En algunas realizaciones, el CAR divulgado es codificado por un polinucleótido, tal como un polinucleótido con la secuencia de ácido nucleico expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 755 y 756, o una secuencia que presenta al menos o al menos aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de ácido nucleico expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 755 y 756.

En algunas realizaciones, el CAR divulgado es codificado por un polinucleótido, tal como un polinucleótido con la secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 755 o una secuencia que presenta al menos o al menos aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, un 98 % o un 99 % de identidad de secuencia con la misma. En algunas realizaciones, el CAR divulgado es codificado por un polinucleótido, tal como un polinucleótido con la secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 755.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio de unión a antígeno comprende (a) la secuencia de nucleótidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 648, 330-352, 647, 716 o 718; (b) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO: 648, 330-352, 647, 716 o 718; o (c) una secuencia degenerada de (a) o (b).

1. Dominio de unión a antígeno

En el presente documento se divulgan receptores de antígenos quiméricos (CAR). Los CAR generalmente incluyen un dominio de unión a antígeno extracelular que incluye, es, o está comprendido dentro de, o comprende, uno de los anticuerpos anti-BCMA divulgados. Por lo tanto, los CAR, normalmente incluyen en sus porciones extracelulares una o más moléculas de unión a BCMA, tales como uno o más fragmentos de unión a antígeno, dominios o porciones, o uno o más dominios variables de anticuerpo, y/o moléculas de anticuerpo, tales como aquellas descritas en el presente documento.

En el presente documento, el término "anticuerpo" se usa en el sentido más amplio e incluye anticuerpos policlonales y monoclonales, incluyendo anticuerpos inalterados y fragmentos de anticuerpos funcionales (de unión a antígeno), incluyendo fragmentos de unión a antígeno (Fab), fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos Fab', fragmentos Fv, fragmentos de IgG recombinante (rIgG), regiones variables de la cadena pesada (V_H) capaces de unirse específicamente al antígeno, fragmentos de anticuerpos monocatenarios, incluyendo fragmentos variables monocatenarios (scFv) y anticuerpos de dominio único (por ejemplo, sdAb, sdFv, nanocuerpo). El término abarca formas de inmunoglobulinas modificadas por ingeniería genética y/o de otro modo, tales como intracuerpos, pepticuerpos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos totalmente humanos, anticuerpos humanizados y anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos multiespecíficos, por ejemplo, biespecíficos o triespecíficos, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos, di-scFv en tándem, tri-scFv en tándem. A menos que se indique otra cosa, el término "anticuerpo" debe entenderse que engloba los fragmentos funcionales de anticuerpo de los mismos también denominados en el presente documento "fragmentos de unión a antígeno". El término también abarca anticuerpos inalterados o de longitud completa, incluyendo anticuerpos de cualquier clase o subclase, incluyendo IgG y sus subclases, IgM, IgE, IgA e IgD.

Las expresiones "región determinante de la complementariedad" y "CDR", sinónimo de "región hipervariable" o "HVR", son conocidas en la técnica por referirse a secuencias no contiguas de aminoácidos dentro de regiones variables de anticuerpos, que confieren especificidad de antígeno y afinidad de unión. En general, hay tres CDR en cada región

variable de cadena pesada (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) y tres CDR en cada región variable de cadena ligera (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). Las "regiones marco conservadas" y "FR" se conocen en la técnica para referirse a las porciones que no son CDR de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera. En general, hay cuatro FR en cada región variable de cadena pesada de longitud completa (FR-H1, FR-H2, FR-H3 y FR-H4) y cuatro FR en cada región variable de cadena ligera de longitud completa (FR-L1, FR-L2, FR-L3 y FR-L4).

Los límites exactos de la secuencia de aminoácidos de una CDR o FR dada se pueden determinar fácilmente usando cualquiera de varios esquemas bien conocidos, incluyendo aquellos descritos por Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5.ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (esquema de numeración "Kabat"); Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273, 927-948 (esquema de numeración "Chothia"); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography", J. Mol. Biol. 262, 732-745". (Esquema de numeración "Contact"); Lefranc MP *et al.*, "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains", Dev Comp Immunol, Enero de 2003; 27(1):55-77 (esquema de numeración "IMGT"); Honegger A y Plückthun A, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool", J Mol Biol, 8 de junio de 2001; 309(3):657-70, (esquema de numeración "Aho"); y Martin *et al.*, "Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm", PNAS, 1989, 86(23):9268-9272, (esquema de numeración "AbM").

Los límites de una determinada CDR o FR pueden variar según el esquema utilizado para la identificación. Por ejemplo, el esquema de Kabat se basa en alineamientos estructurales, mientras que el esquema de Chothia se basa en información estructural. La numeración de los esquemas de Kabat y Chothia se basa en las longitudes de secuencia de las regiones de anticuerpos más comunes, con inserciones acomodadas por letras de inserción, por ejemplo, "30a", y deleciones que aparecen en algunos anticuerpos. Los dos esquemas colocan determinadas inserciones y deleciones ("indels") en diferentes posiciones, dando como resultado la numeración diferencial. El esquema de Contact se basa en el análisis de estructuras cristalinas complejas y es similar en muchos aspectos al esquema de numeración de Chothia. El esquema AbM es un compromiso entre las definiciones de Kabat y Chothia basado en el utilizado por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular.

La **Tabla 1,** a continuación, enumera los límites de posición de ejemplo de CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 y CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 identificados mediante los esquemas de Kabat, Chothia, AbM y Contact, respectivamente. Para CDR-H1, la numeración de restos se enumera usando los esquemas de numeración de Kabat y Chothia. Las FR se ubican entre las CDR, por ejemplo, con FR-L1 ubicada antes de CDR-L1, FR-L2 ubicada entre CDR-L1 y CDR-L2, FR-L3 ubicada entre CDR-L2 y CDR-L3, y así sucesivamente. Se observa que debido a que el esquema de numeración de Kabat que se muestra coloca inserciones en H35A y H35B, el final del bucle CDR-H1 de Chothia cuando se numera usando la convención de numeración de Kabat que se muestra varía entre H32 y H34, dependiendo de la longitud del bucle.

Tabla 1. Límites de las CDR de acuerdo con diversos esquemas de numeración.

CDR	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contact**
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (numeración de Kabat[1])	H31--H35B	H26--H32.34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (Numeración de Chothia[2])	H31--H35	H26--H32	H26--H35	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H50--H58	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

1 - Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5.ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD
2 - Al-Lazikani *et al.*, (1997) 1MB 273, 927-948

Por lo tanto, a menos que se especifique otra cosa, una "CDR" o "región determinante de la complementariedad", o CDR especificadas individuales (por ejemplo, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3), de un anticuerpo dado o región del mismo, tal como una región variable del mismo, debe entenderse que abarca una región determinante de la complementariedad (o la específica) definida por cualquiera de los esquemas mencionados anteriormente. Por ejemplo, cuando se indica que una CDR particular (por ejemplo, una CDR-H3) contiene la secuencia de aminoácidos de una CDR correspondiente en una secuencia de aminoácidos de la región V_H o V_L dada, se entiende que dicha CDR tiene una secuencia de la CDR correspondiente (por ejemplo, CDR-H3) dentro de la región variable, como se define en cualquiera de los esquemas mencionados anteriormente u otros esquemas conocidos. En algunas realizaciones, se especifican secuencias de CDR específicas. Las secuencias CDR de ejemplo de los anticuerpos divulgados se

describen usando diversos esquemas de numeración, aunque se entiende que un anticuerpo divulgado puede incluir CDR como se describe de acuerdo con cualquiera de los otros esquemas de numeración mencionados u otros esquemas de numeración conocidos por un experto.

Análogamente, a menos que se especifique otra cosa, una FR o una FR individual especificada (por ejemplo, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4), de un anticuerpo dado o región del mismo, tal como una región variable del mismo, debe entenderse que abarca una región marco conservada (o la específica) definida por cualquiera de los esquemas conocidos. En algunas realizaciones, se especifica el esquema de identificación de una CDR, FR, o varias FR o CDR particulares, tal como la CDR definida por el método de Kabat, Chothia, AbM o Contact, u otros esquemas conocidos. En otros casos, se proporciona la secuencia de aminoácidos particular de una CDR o FR.

La expresión "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que está implicada en la unión del anticuerpo al antígeno. Las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera (V_H y V_L, respectivamente) de un anticuerpo natural tienen generalmente estructuras similares, comprendiendo cada dominio cuatro regiones marco conservadas (FR) conservadas y tres CDR. (Véase, por ejemplo, Kindt *et al.* Kuby Immunology, 6.ª ed., W. H. Freeman y Co., página 91 (2007). Un solo dominio V_H o V_L puede ser suficiente para conferir especificidad de unión a antígeno. De manera adicional, pueden aislarse anticuerpos que se unen a un antígeno particular usando un dominio V_H o V_L de un anticuerpo que se une al antígeno para cribar una biblioteca de dominios V_L o V_H complementarios, respectivamente. Véase, por ejemplo, Portolano *et al.*, J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson *et al.*, Nature 352:624-628 (1991).

Entre los anticuerpos incluidos en los CAR divulgados hay fragmentos de anticuerpo. Un "fragmento de anticuerpo" o "fragmento de unión a antígeno" se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo inalterado que comprende una porción de un anticuerpo inalterado que se une al antígeno al que se une el anticuerpo inalterado. Ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero sin limitación, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$; diacuerpos; anticuerpos lineales; regiones variables de la cadena pesada (V_H), moléculas de anticuerpo monocatenarios, tales como los scFv y los anticuerpos de dominio único que comprenden únicamente la región V_H; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno en los CAR divulgados es o comprende un fragmento de anticuerpo que comprende una región de cadena pesada variable (V_H) y una región de cadena ligera variable (V_L). En particular, como se describe en el presente documento, los anticuerpos son fragmentos de anticuerpos monocatenarios que comprenden una región variable de cadena pesada (V_H) y/o una región variable de cadena ligera (V_L), tales como los scFv.

Los anticuerpos de dominio único son fragmentos de anticuerpo que comprenden la totalidad o una porción del dominio variable de cadena pesada o la totalidad o una porción del dominio variable de cadena ligera de un anticuerpo. En determinados casos, un anticuerpo de un solo dominio es un anticuerpo humano de un solo dominio.

Los fragmentos de anticuerpo pueden prepararse mediante diversas técnicas, incluyendo, pero sin limitación, la digestión proteolítica de un anticuerpo inalterado, así como la producción por células hospedadoras recombinantes. En algunas realizaciones, los anticuerpos son fragmentos producidos de forma recombinante, tales como fragmentos que comprenden disposiciones que no se dan de manera natural, tales como aquellos con dos o más regiones de anticuerpos o cadenas unidas por enlazadores sintéticos, por ejemplo, enlazadores peptídicos y/o que pueden no producirse por digestión enzimática de un anticuerpo inalterado de origen natural. En algunas realizaciones, los fragmentos de anticuerpos son scFv.

Un anticuerpo "humanizado" es un anticuerpo en el que todos o sustancialmente todos los restos de aminoácidos de CDR provienen de CDR no humanas y todos o sustancialmente todos los restos de aminoácidos de FR provienen de FR humanas. Un anticuerpo humanizado puede incluir opcionalmente al menos una porción de una región constante de anticuerpo que proviene de un anticuerpo humano. Una "forma humanizada" de un anticuerpo no humano, se refiere a una variante del anticuerpo no humano que se ha humanizado, normalmente para reducir la inmunogenicidad en seres humanos, a la vez que se conserva la especificidad y la afinidad del anticuerpo no humano progenitor. En algunas realizaciones, se sustituyen algunos restos de FR en un anticuerpo humanizado por restos correspondientes de un anticuerpo no humano (por ejemplo, el anticuerpo del que proceden los restos de la CDR), por ejemplo, para restablecer o mejorar la especificidad o afinidad del anticuerpo.

Entre los anticuerpos anti-BCMA incluidos en los CAR divulgados existen anticuerpos humanos. Un "anticuerpo humano" es un anticuerpo con una secuencia de aminoácidos que se corresponde con la de un anticuerpo producido por un ser humano o una célula humana o una fuente no humana que utiliza repertorios de anticuerpo humanos u otras secuencias codificantes de anticuerpo humanas, incluyendo bibliotecas de anticuerpos humanos. La expresión excluye formas humanizadas de anticuerpos no humanos que comprenden regiones de unión a antígeno no humanas, tales como aquellas en las que todas o sustancialmente todas las CDR son no humanas. El término incluye fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos humanos.

Pueden prepararse anticuerpos humanos administrando un inmunógeno a un animal transgénico que se ha modificado para producir anticuerpos humanos inalterados o anticuerpos inalterados con regiones variables humanas en respuesta a la exposición a antígenos. Dichos animales normalmente contienen la totalidad o una porción de los locus

de inmunoglobulina humanos, que sustituyen los locus endógenos de la inmunoglobulina, o que están presentes extracromosómicamente o integrados de forma aleatoria en los cromosomas de los animales. En dichos animales transgénicos, generalmente se han inactivado los locus de inmunoglobulina endógenos. Los anticuerpos humanos también pueden obtenerse de bibliotecas de anticuerpos humanos, incluyendo bibliotecas de presentación en fago y sin células, que contienen secuencias codificantes de anticuerpos derivadas de un repertorio humano.

Entre los anticuerpos incluidos en los CAR divulgados existen aquellos que son anticuerpos monoclonales, incluyendo fragmentos de anticuerpos monoclonales. La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de o en una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, es decir, los anticuerpos individuales que componen la población son idénticos, excepto por posibles variantes que contengan mutaciones naturales o que surjan durante la producción de una preparación de anticuerpos monoclonales, estando presentes dichas variantes generalmente en cantidades minoritarias. A diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales, que incluyen normalmente diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes epítopos, cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpos monoclonales está dirigido contra un solo epítopo en un antígeno. No debe interpretarse que el término requiera la producción del anticuerpo por cualquier método concreto. Un anticuerpo monoclonal se puede preparar mediante una variedad de técnicas, incluyendo pero sin limitación la generación a partir de un hibridoma, métodos de ADN recombinante, la presentación en fago y otros métodos de presentación de anticuerpos.

En algunas realizaciones, el CAR incluye una porción de unión a BCMA o porciones de la molécula de anticuerpo, tal como una región variable de cadena pesada (V_H) y/o una región variable de cadena ligera (V_L) del anticuerpo, por ejemplo, un fragmento de anticuerpo scFv. En algunas realizaciones, los CAR de unión a BCMA divulgados contienen un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-BCMA, o un fragmento de unión a antígeno del mismo que confiere las propiedades de unión a BCMA del CAR divulgado. En algunas realizaciones, el anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede ser cualquier anticuerpo anti-BCMA descrito o derivado de cualquier anticuerpo anti-BCMA descrito. Véase, por ejemplo, Carpenter *et al.*, Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060, los documentos WO 2016090320, WO2016090327, WO2010104949 y WO2017173256. Cualquiera de dichos anticuerpos anti-BCMA o fragmentos de unión a antígeno puede usarse en los CAR divulgados. En algunas realizaciones, el CAR anti-BCMA contiene un dominio de unión a antígeno que es un scFv que contiene una región pesada variable (V_H) y/o una región ligera variable (V_L) derivada de un anticuerpo descrito en el documento WO 2016090320 o WO2016090327.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-BCMA o fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de la región variable de cadena pesada y/o ligera (V_H o V_L) como se describe, o una porción de unión a antígeno suficiente de la misma. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-BCMA, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de la región V_H o una porción de unión a antígeno suficiente de la misma que contiene una CDR-H1, una CDR-H2 y/o una CDR-H3 como se describe. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-BCMA, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de la región V_L o una porción de unión a antígeno suficiente que contiene una CDR-L1, una CDR-L2 y/o una CDR-L3 como se describe. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-BCMA, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de la región V_H que contiene una CDR-H1, una CDR-H2 y/o una CDR-H3 como se describen y contiene una secuencia de la región V_L que contiene una CDR-L1, una CDR-L2 y/o una CDR-L3 como se describe. Entre los anticuerpos también están aquellos que tienen secuencias al menos o aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 91 %, aproximadamente un 92 %, aproximadamente un 93 %, aproximadamente un 94 %, aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 % idénticas a una secuencia de este tipo.

En algunas realizaciones, el anticuerpo, por ejemplo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el CAR divulgado, tiene una región variable de cadena pesada (V_H) que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617 y 772-774, y 814-832, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el aminoácido de la región V_H seleccionado de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832, o contiene una CDR-H1, una CDR-H2 y/o una CDR-H3 presentes en una secuencia de V_H de este tipo. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo, en el CAR divulgado, tiene una región V_H de cualquiera de los anticuerpos o fragmentos de unión a anticuerpos descritos en los documentos WO 2016090327, WO 2016090320 o WO 2017173256.

En algunas realizaciones, la región V_H del anticuerpo anti-BCMA es una que incluye una región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) que comprende la secuencia de aminoácidos $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 355), en donde X_1 es A, D, E, G, L, V o W; X_2 es A, D, G, L, P, Q o S; X_3 es A, D, G, L o Y; X_4 es D, G, P, R, S, V, Y o nulo; X_5 es D, I, P, S, T, Y o nulo; X_6 es A, G, I, S, T, V, Y o nulo; X_7 es A, D, E, F, L, P, S, Y o nulo; X_8 es P, Q, T, Y o nulo; X_9 es D, G, R, Y o nulo; X_{10} es A, F, Y o nulo; X_{11} es D, F o nulo; X_{12} es F o nulo; X_{13} es D, T o Y; y X_{14} es I, L, N, V o Y. En algunas de dichas realizaciones, en dicha CDR-H3, X_1 es V; X_2 es D; X_3 es G; X_4 es D; X_5 es Y; X_6 es V; X_7 es D; X_8 es nulo; X_9 es nulo; X_{10} es nulo; X_{11} es nulo; X_{12} es nulo; X_{13} es D; y X_{14} es Y.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H3 que

comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595, de acuerdo con la numeración de Kabat. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 y 595 de acuerdo con la numeración de Chothia o la numeración AbM. En algunas realizaciones, la región VH de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H3 que tiene la secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 606 y 613. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 517, 595, 606 o 613. En cualquiera de dichos ejemplos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede contener una secuencia de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832 en las que la secuencia CDR-H3 correspondiente contenida en las mismas (por ejemplo, correspondiente a los restos de aminoácidos H95 a H102 según la numeración de Kabat) se reemplaza por la secuencia CDR-H3 seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 y 595 de acuerdo con la numeración de Kabat, una cualquiera de las SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 y 595 de acuerdo con la numeración de Chothia o la numeración AbM, o una cualquiera de las SEQ ID NO: 606 y 613.

En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H3 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832.

En algunas realizaciones, la región V_H del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es una que comprende una región 1 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H1) que comprende la secuencia de aminoácidos de $X_1X_2X_3MX_4$ (SEQ ID NO:353) X_1 es D o S; X_2 es Y o S; X_3 es A, G, W o Y; y X_4 es H, Q o S. En algunas realizaciones, en dicha CDR-H1, X_1 es D; X_2 es Y; X_3 es Y; y X_4 es S.

En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 507 y 593 de acuerdo con la numeración de Kabat. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 12-15, 158-160, 294, 295, 532 y 596 de acuerdo con la numeración de Chothia. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 19-22, 165-169, 298, 299, 509, 577 y 598 de acuerdo con la numeración AbM. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 604 y 611. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 507, 532, 577, 593, 596, 598, 604 y 611. En cualquiera de dichos ejemplos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede contener una secuencia de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832 en las que la secuencia CDR-H1 correspondiente contenida en las mismas (por ejemplo correspondiente a los restos de aminoácidos H31 a H35 de acuerdo con la numeración de Kabat) se reemplaza por la secuencia CDR-H1 seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 507 y 593 de acuerdo con la numeración de Kabat, una cualquiera de las SEQ ID NO: 12-15, 158-160, 294, 295, 532 y 596 de acuerdo con la numeración de Chothia, una cualquiera de las SEQ ID NO: 19-22, 165-169, 509, 298, 299, 509, 577 y 598 de acuerdo con la numeración AbM, o una cualquiera de las SEQ ID NO: 604 y 611.

En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832.

En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es una que incluye una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H2) que comprende la secuencia de aminoácidos de $X_1IX_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}YX_{12}$ X_{13} X_{14} X_{15} X_{16} X_{17} (SEQ ID NO: 354), en donde X_1 es F, G, H, V, W o Y; X_2 es N, R, S o V; X_3 es P, Q, S, V, W o Y; X_4 es K o nulo; X_5 es A o nulo; X_6 es D, G, N, S o Y; X_7 es G o S; X_8 es G o S; X_9 es E, G, N, T o S; X_{10} es I, K o T; X_{11} es E, G, N o Y; X_{12} es A o V; X_{13} es A, D o Q; X_{14} es K o S; X_{15} es F o V; X_{16} es K o Q; y X_{17} es E o G. En algunas realizaciones, en dicha CDR-H2, X_1 es Y; X_2 es S, X_3 es S; X_4 es nulo; X_5 es nulo; X_6 es S; X_7 es G; X_8 es S; X_9 es T; X_{10} es I; X_{11} es Y; X_{12} es A; X_{13} es D; X_{14} es S; X_{15} es V; X_{16} es K; y X_{17} es G.

En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 372-374, 513 y 594 de acuerdo con la numeración de Kabat. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 16-18, 161-164, 296, 297, 514-516, 551, 597 de

acuerdo con la numeración de Chothia. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 23-25, 170-173, 300, 301, 510-512, 587 y 599 de acuerdo con la numeración AbM. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 605 y 612. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H2 que tiene la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 513, 551, 587, 594, 597, 599, 605, o 612. En cualquiera de dichos ejemplos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede contener una secuencia de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832 en las que la secuencia CDR-H2 correspondiente contenida en las mismas (por ejemplo correspondiente a los restos de aminoácidos H50 a H65 de acuerdo con la numeración de Kabat) se reemplaza por la secuencia CDR-H2 seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 372-374, 513 y 594 de acuerdo con la numeración de Kabat, una cualquiera de las SEQ ID NO: 16-18, 161-164, 296, 297, 514-516, 551, 597 de acuerdo con la numeración de Chothia, una cualquiera de las SEQ ID NO: 23-25, 170-173, 300, 301, 510-512, 587 y 599 de acuerdo con la numeración AbM, o una cualquiera de las SEQ ID NO 605 o 612.

En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H2 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 507 y 593 de acuerdo con la numeración de Kabat; una CDR-H2 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 372-374, 513 y 594 de acuerdo con la numeración de Kabat; y una CDR-H3 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 y 595 de acuerdo con la numeración de Kabat. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 12-15, 158-160, 294, 295, 532 y 596 de acuerdo con la numeración de Chothia; una CDR-H2 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 16-18, 161-164, 296, 297, 514-516, 551, 597 de acuerdo con la numeración de Chothia; y una CDR-H3 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 y 595 de acuerdo con la numeración de Chothia. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 19-22, 165-169, 509, 298, 299, 509, 577 y 598 de acuerdo con la numeración AbM; una CDR-H2 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 23-25, 170-173, 300, 201, 510-512, 587 y 599 de acuerdo con la numeración AbM; y una CDR-H3 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595, 606 y 613 de acuerdo con la numeración AbM. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-H1 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 604 y 611; una CDR-H2 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 605 y 612; y una CDR-H3 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 606 y 613.

En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y/o una CDR-H3 de acuerdo con la numeración de Kabat. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y/o una CDR-H3 de acuerdo con la numeración de Chothia. En algunas realizaciones, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y/o una CDR-H3 de acuerdo con la numeración AbM.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 seleccionadas del grupo que consiste en: una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 8, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 9, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 11, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 140, 145 y 149, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 141, 145 y 149, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 141, 145 y 150, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 142, 146 y 151, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 152, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las

SEQ ID NO: 143, 147 y 153, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 144, 148 y 154, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 155, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 156, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 157, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 6 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 372 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 376, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 6 y 377, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 373 y 152, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 378, respectivamente; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 374 y 9; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 288, 290 y 292; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 289, 291, 293; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 507, 513 y 517; una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, de acuerdo con la numeración de Kabat.

Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo divulgado en el presente comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos seleccionada de: las SEQ ID NO: 1, 4 y 7; las SEQ ID NO: 2, 5 y 8; las SEQ ID NO: 2, 5 y 9; las SEQ ID NO: 2, 5 y 10; las SEQ ID NO: 3, 6 y 11; las SEQ ID NO: 140, 145, y 149; las SEQ ID NO: 141, 145, y 149; las SEQ ID NO: 141, 145, y 150; las SEQ ID NO: 142, 146 y 151; las SEQ ID NO: 2, 5 y 152; las SEQ ID NO: 143, 147 y 153; las SEQ ID NO: 144, 148 y 154; las SEQ ID NO: 3, 6 y 155; las SEQ ID NO: 2, 5 y 156; las SEQ ID NO: 2, 5 y 157; las SEQ ID NO: 2, 6 y 376; las SEQ ID NO: 3, 372 y 376; las SEQ ID NO: 3, 6 y 376; las SEQ ID NO: 3, 6 y 377; las SEQ ID NO: 2, 373 y 152; las SEQ ID NO: 2, 5 y 378; las SEQ ID NO: 2, 374 y 9, las SEQ ID NO: 288, 290 y 292; las SEQ ID NO: 289, 291, 293; las SEQ ID NO: 507, 513 y 517; y las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, de acuerdo con la numeración de Kabat.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3, respectivamente, que comprenden la secuencia de aminoácidos de una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3, respectivamente, que comprenden la secuencia de aminoácidos de una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H de la SEQ ID NO: 609 o la SEQ ID NO: 617. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente; las SEQ ID NO: 596, 597 y 595, respectivamente; las SEQ ID NO: 598, 599 y 595, respectivamente; o las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente.

En algunas realizaciones del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulgan en el presente documento, la región V_H comprende cualquiera de entre la CDR-H1, la CDR-H2 y la CDR-H3 como se describen y comprende una región marco conservada 1 (FR1), una FR2, una FR3 y/o una FR4 que tienen al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia, respectivamente, con una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832. Por ejemplo, el anticuerpo anti-BCMA o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3, respectivamente, contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832, y una región marco conservada (por ejemplo, una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4) que contiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con una región marco conservada (por ejemplo, una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4) contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4 seleccionadas de una FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 59-63, 195-203, 308, 309 y 434-439; una FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 64-66, 204-209, 310 y 311; una FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 67-69, 210-216, 312, 313, 441 y 443; y/o una FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 70-71, 217-220, 314, 315, 444 y 445. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 61, una FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65, una FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 69 y una FR4 que comprende los aminoácidos de la SEQ ID NO: 70.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832.

También se divulgan anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que tienen secuencias al menos o aproximadamente al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idénticas a dichas secuencias. Por ejemplo, en el presente documento se divulga un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo de dominio único (sdAb) que comprende únicamente una secuencia de la región V_H o una porción de unión a antígeno suficiente de la misma, tal como cualquiera de las secuencias V_H descritas anteriormente (por ejemplo, una CDR-H1, una CDR-H2, una CDR-H3 y/o una CDR-H4).

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-BCMA o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región V_H comprende además una cadena ligera o una porción de unión a antígeno suficiente de la misma. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una región V_H y una región V_L, o una porción de unión a antígeno suficiente de una región V_H y V_L. En dichas realizaciones, una secuencia de la región V_H puede ser cualquiera de las secuencias de V_H descritas. En algunos de dichos casos, el anticuerpo es un fragmento de unión a antígeno, tal como un Fab o un scFv. En algunos de dichos casos, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa que también contiene una región constante.

En algunas realizaciones, el anticuerpo, por ejemplo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene una región variable de cadena ligera (V_L) que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno tiene una región VL descrita en cualquiera de los documentos WO 2016090327, WO 2016090320 o WO 2017173256

En algunas realizaciones, la región V_L del anticuerpo anti-BCMA o fragmento de unión a antígeno del mismo es una que incluye una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L3) que comprende la secuencia de aminoácidos $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$, (SEQ ID NO: 358), en donde X_1 es A, C, G, H, I, Q o S; X_2 es A, Q, S o V; X_3 es S, W o Y; X_4 es D, F, G, H o Y; X_5 es D, G, M, R, S o T; X_6 es A, G, H, L, R, S, T o Y; X_7 es L, P, R, S o nulo; X_8 es D, G, N, R, S, T o nulo; X_9 es A, G, H, L, P o nulo; X_{10} es F, S o nulo; X_{11} es L, P, W o Y; y X_{12} es S, T o V. En algunas realizaciones, en dicha CDR-L3, X_1 es H; X_2 es V; X_3 es W; X_4 es D; X_5 es R; X_6 es S; X_7 es R; X_8 es D; X_9 es H; X_{10} es nulo; X_{11} es Y; y X_{12} es V.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 y 603 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 591 o 603 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM. En cualquiera de dichos ejemplos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede contener una secuencia de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849 en las que la secuencia CDR-L3 correspondiente contenida en las mismas (por ejemplo correspondiente a los restos de aminoácidos L89 a L97 de acuerdo con la numeración de Kabat) se reemplaza por la secuencia CDR-L3 seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 y 603 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM.

En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L3 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849. En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L3 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L de la SEQ ID NO: 610 o la SEQ ID NO: 618.

En algunas realizaciones, la región V_L del anticuerpo anti-BCMA o fragmento de unión a antígeno del mismo es una que incluye una región 1 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L1) que contiene la secuencia de aminoácidos: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$ (SEQ ID NO: 356), en donde X_1 es G, K, R, S o T; X_2 es A, G o S; X_3 es G, N, S o T; X_4 es G, K, N, Q, R o S; X_5 es S o nulo; X_6 es D, N, V o nulo; X_7 es L, V o nulo; X_8 es H, S, Y o nulo; X_9 es S, T o nulo; X_{10} es S o nulo; X_{11} es D, G, I, N, S o nulo; X_{12} es D, E, G, K, I, N o nulo; X_{13} es F, G,

K, N, R, S, Y o nulo; X_{14} es D, K, N, T o nulo; X_{15} es A, D, G, L, N, S, T o Y; X_{16} es L o V; X_{17} es A, H, N, Q o S. En algunas realizaciones, X_1 es G; X_2 es A; X_3 es N; X_4 es N; X_5 es nulo; X_6 es nulo; X_7 es nulo; X_8 es nulo; X_9 es nulo; X_{10} es nulo; X_{11} es I; X_{12} es G; X_{13} es S; X_{14} es K; X_{15} es S; X_{16} es V; X_{17} es H.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 o 601 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 607 y 614. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 589 o 601 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM. En cualquiera de dichos ejemplos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede contener una secuencia de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849 en las que la secuencia CDR-L1 correspondiente contenida en las mismas (por ejemplo correspondiente a los restos de aminoácidos L24 a L34 de acuerdo con la numeración de Kabat) se reemplaza por la secuencia CDR-L1 seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 o 601 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM.

En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L1 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849. En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L1 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L de la SEQ ID NO: 589, 601, 607 o 614.

En algunas realizaciones, la región V_L del anticuerpo anti-BCMA o fragmento de unión a antígeno del mismo es una que incluye una región 2 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L2) que contiene la secuencia de aminoácidos de $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 357), en donde X_1 es A, D, E, N, S, V o W; X_2 es A, D, N, S o V; X_3 es A, D, H, I, N o S; X_4 es D, K, N, Q, R o T; X_5 es L, R o V; X_6 es A, E, P o Q; y X_7 es A, D, S o T. En algunas realizaciones, X_1 es D; X_2 es D; X_3 es D; X_4 es D; X_5 es R; X_6 es P; y X_7 es S.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 y 602 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 608 y 615. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 590 o la SEQ ID NO: 602 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM. En cualquiera de dichos ejemplos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede contener una secuencia de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849 en las que la secuencia CDR-L2 correspondiente contenida en las mismas (por ejemplo correspondiente a los restos de aminoácidos L50 a L56 de acuerdo con la numeración de Kabat) se reemplaza por la secuencia CDR-L2 seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 y 602 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM, o con cualquiera de las SEQ ID NO: 608 y 615.

En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L2 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849. En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L2 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L de la SEQ ID NO: 589, 601, 607 o 614.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L1 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 o 601 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM; una CDR-L2 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 y 602 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM; y una CDR-L3 que es o comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 y 603 de acuerdo con la numeración de Kabat, la numeración de Chothia o la numeración AbM.

En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y/o una CDR-L3 de acuerdo con la numeración de Kabat. En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y/o una CDR-L3 de acuerdo con la numeración de Chothia. En algunas realizaciones, la región V_L de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y/o una CDR-L3 de acuerdo con la numeración

AbM.

En algunas realizaciones del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulgan en el presente documento, la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 seleccionas de entre: una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 26, 37 y 47, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 27, 38 y 48, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 28, 39 y 49, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 29, 40 y 50, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 30, 39 y 51, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 31, 41 y 52, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 32, 42 y 53, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 30, 39 y 54, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 33, 43 y 55, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 34, 44 y 56, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 35, 45 y 57, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 36, 46 y 58, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 184, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 185, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 186, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 187, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 175, 180 y 188, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 189, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 176, 181 y 190, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 177, 182 y 191, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 174, 179 y 192, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 178, 183 y 193, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 178, 183 y 194, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 30, 399 y 415, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 380, 400 y 416, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 33, 43 y 421, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 381, 401 y 417, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 382, 402 y 418, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 383, 403 y 419, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 384, 39 y 54, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 385, 180 y 58, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 175, 180 y 188, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 386, 404 y 420, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 387, 405 y 422, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 388, 406 y 423, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 388, 407 y 424, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 389, 408 y 425, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 390, 183 y 193, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 391, 409 y 426, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 392, 40 y 427, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 394, 39 y 429, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 395, 411 y 430, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 396, 412 y 431, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 396, 412 y 58, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 397, 413 y 432, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 398, 414 y 433, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 302, 304 y 306, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 303, 305 y 307, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 589, 590 y 591, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 607, 608 y

591, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente. En algunas realizaciones del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulgan en el presente documento, la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 589, 590 y 591, respectivamente; las SEQ ID NO: 607, 608 y 591, respectivamente; las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente.

Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo divulgado en el presente comprende una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos seleccionada de: las SEQ ID NO: 26, 37 y 47; las SEQ ID NO: 27, 38 y 48; las SEQ ID NO: 28, 39 y 49; las SEQ ID NO: 29, 40 y 50; las SEQ ID NO: 30, 39 y 51; las SEQ ID NO: 31, 41 y 52; las SEQ ID NO: 32, 42 y 53; las SEQ ID NO: 30, 39 y 54; las SEQ ID NO: 33, 43 y 55; las SEQ ID NO: 34, 44 y 56; las SEQ ID NO: 35, 45 y 57; las SEQ ID NO: 36, 46 y 58; las SEQ ID NO: 174, 179 y 184; las SEQ ID NO: 174, 179 y 185; las SEQ ID NO: 174, 179 y 186; las SEQ ID NO: 174, 179 y 187; las SEQ ID NO: 175, 180 y 188; las SEQ ID NO: 174, 179 y 189; las SEQ ID NO: 176, 181 y 190; las SEQ ID NO: 177, 182 y 191; las SEQ ID NO: 174, 179 y 192; las SEQ ID NO: 178, 183 y 193; las SEQ ID NO: 178, 183 y 194; las SEQ ID NO: 30, 399 y 415; las SEQ ID NO: 380, 400 y 416; las SEQ ID NO: 33, 43 y 421; las SEQ ID NO: 381, 401 y 417; las SEQ ID NO: 382, 402 y 418; las SEQ ID NO: 383, 403 y 419; las SEQ ID NO: 384, 39 y 54; las SEQ ID NO: 385, 180 y 58; las SEQ ID NO: 175, 180 y 188; las SEQ ID NO: 386, 404 y 420; las SEQ ID NO: 387, 405 y 422; las SEQ ID NO: 388, 406 y 423; las SEQ ID NO: 388, 407 y 424; las SEQ ID NO: 389, 408 y 425; las SEQ ID NO: 390, 183 y 193; las SEQ ID NO: 391, 409 y 426; las SEQ ID NO: 392, 40 y 427; las SEQ ID NO: 394, 39 y 429; las SEQ ID NO: 395, 411 y 430; las SEQ ID NO: 396, 412 y 431; las SEQ ID NO: 396, 412 y 58; las SEQ ID NO: 397, 413 y 432; las SEQ ID NO: 398, 414 y 433; las SEQ ID NO: 589, 590 y 591; las SEQ ID NO: 607, 608 y 591; las SEQ ID NO: 601, 602, y 603; o las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3, respectivamente, contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849. En algunas realizaciones, el anticuerpo contiene una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3, respectivamente, contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de la SEQ ID NO: 610 o la SEQ ID NO: 618.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente.

En algunas realizaciones del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulgan en el presente documento, la región V_L comprende cualquiera de la CDR-L1, la CDR-L2 y la CDR-L3 como se describen y comprende una región marco conservada 1 (FR1), una FR2, una FR3 y/o una FR4 que tienen al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia, respectivamente, con una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849. Por ejemplo, el anticuerpo anti-BCMA o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3, respectivamente, contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849, y una región marco conservada (por ejemplo, una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4) que contiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con una región marco conservada (por ejemplo, una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4) contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849. En algunas realizaciones, la región V_L comprende una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4 seleccionadas de una FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 72-82, 221-227, 316, 317, 446-459 y 461-466; una FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 83-92, 228-232, 318, 319, 467-477 y 479-482; una FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 93-101, 233-242, 320, 321, 483-495 y 497-501; y/o una FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 102-109, 243-246, 322, 323, 502-506 y 508. En algunas realizaciones, la región V_L comprende una FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 79, una FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 89, una FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 98 y una FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 108.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo contiene una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 610 o la SEQ ID NO: 618.

También se divulgan anticuerpos que tienen secuencias al menos o aproximadamente al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idénticas a dichas secuencias.

En algunas realizaciones, la región V_H del anticuerpo o fragmento comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832, y la región V_L del anticuerpo o fragmento comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849.

También se divulgan anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que tienen secuencias al menos o aproximadamente al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idénticas a dichas secuencias. Por ejemplo, en el presente documento se divulga un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que contiene una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849, y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 y 833-849, y una región V_H de la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 y 814-832.

En algunas realizaciones, la región V_H es o comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región V_H de cualquiera de las SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 u 814-832; y la región V_L es o comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región V_L de cualquiera de las SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 u 833-849.

En algunas realizaciones, la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 110 y 116, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 111 y 117, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 110 y 119, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 110 y 120, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 110 y 121, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 110 y 122, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 110 y 123, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 112 y 124, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 113 y 125, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 114 y 126, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 115 y 127, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 247 y 257, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 248 y 258, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 249 y 259, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 250 y 260, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 251 y 261, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 252 y 262, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 253 y 263, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 254 y 264, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 255 y 265, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la

región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 256 y 266, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 256 y 267, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 518 y 534, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 519 y 535, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 115 y 536, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 520 y 264, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 521 y 537, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 522 y 538, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 523 y 539, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 519 y 540, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 524 y 541, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 525 y 261, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 526 y 542, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 527 y 543, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 528 y 544, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 529 y 545, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 528 y 546, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 522 y 547, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 256 y 548, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 530 y 549, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 531 y 550, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 519 y 552, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 110 y 553, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 533 y 554, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 115 y 555, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 524 y 556, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 519 y 557, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 324 y 326, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 325 y 327, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 609 y 610, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 772 y 775, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 773 y 776, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 774 y 777, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 815 y 833, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 816 y 834, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 817 y 835, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 818 y 836, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 819 y 837, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 820 y 838, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 821 y 839, respectivamente, o una secuencia

de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 822 y 840, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 823 y 841, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 824 y 842, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 825 y 843, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 826 y 844, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 827 y 845, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 828 y 846, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 829 y 847, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 830 y 847, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 831 y 848, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas; o la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 832 y 849, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las mismas.

En algunas realizaciones, la región V_H del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR-H1, una CDR-H2, una CDR-H3, respectivamente, que comprende las secuencias de aminoácidos de CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 y 814-832; y comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3, respectivamente, que comprende las secuencias de aminoácidos de CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, respectivamente contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 y 833-849.

En algunas de las realizaciones, la V_H es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de V_H de la SEQ ID NO: 617; y la V_L es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de V_L de la SEQ ID NO: 618; la V_H es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de V_H de la SEQ ID NO: 256; y la V_L es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de V_L de la SEQ ID NO: 267; la V_H es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de V_H de la SEQ ID NO: 519; y la V_L es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de V_L de la SEQ ID NO: 535; la V_H es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de V_H de la SEQ ID NO: 115; y la V_L es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de V_L de la SEQ ID NO: 536; o la V_H es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de V_H de la SEQ ID NO: 609; y la V_L es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de V_L de la SEQ ID NO: 610. En algunas de las realizaciones, la región V_H comprende una CDR-H1, una FR contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en la SEQ ID NO: 617; y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L expuesta en la SEQ ID NO: 618; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en la SEQ ID NO: 256; y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L expuesta en la SEQ ID NO: 267; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en la SEQ ID NO: 519; y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L expuesta en la SEQ ID NO: 535; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en la SEQ ID NO: 115; y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L expuesta en la SEQ ID NO: 536; o la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en la SEQ ID NO: 609; y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L expuesta en la SEQ ID NO: 610.

En algunas realizaciones, la región V_H es o comprende (a) una CDR-H1 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 593, 611, 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295, 507, 532, 596 o 604; (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 594, 612, 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 597 o 605; y (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 595, 613, 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 o 606; y la región V_L es o comprende (a) una CDR-L1 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 601, 614, 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 o 607; (b) una CDR-L2 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 602, 615, 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 o 608; y (c) una CDR-L3 que comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 603, 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433 o 591.

En algunas realizaciones, la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 26, 37 y 47, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 8, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 27, 38 y 48, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 28, 39 y 49, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 29, 40 y 50, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 30, 39 y 51, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 31, 41 y 52, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 32, 42 y 53, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 30, 39 y 54, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 9, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 33, 43 y 55, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 34, 44 y 56, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 3, 6 y 11, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 35, 45 y 57, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 36, 46 y 58, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 140, 145 y 149, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 174, 179 y 184, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 141, 145 y 149, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 174, 179 y 185, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 141, 145 y 150, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 174, 179 y 186, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 142, 146 y 151, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 174, 179 y 187, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 152, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 175, 180 y 188, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 143, 147 y 153, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 174, 179 y 189, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 144, 148 y 154, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 176, 181 y 190, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 3, 6 y 155, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 177, 182 y 191, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 156, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 174, 179 y 192, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 157, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 178, 183 y 193, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 157, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 178, 183 y 194, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 6 y 376, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 30, 399 y 415, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una

CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 380, 400 y 416, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 33, 43 y 421, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 3, 6 y 155, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 177, 182 y 191, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 3, 372 y 376, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 381, 401 y 417, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 3, 6 y 376, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 382, 402 y 418, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 3, 6 y 377, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 383, 403 y 419, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 384, 39 y 54, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 385, 180 y 58, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 373 y 152, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 175, 180 y 188, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 3, 6 y 11, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 386, 404 y 420, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 378, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 33, 43 y 421, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 9, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 387, 405 y 422, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 9, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 388, 406 y 423, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 9, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 388, 407 y 424, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 3, 6 y 376, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 389, 408 y 425, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 157, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 390, 183 y 193, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 374 y 9, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 391, 409 y 426, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 392, 40 y 427, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 394, 39 y 429, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 395, 411 y 430, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 28, 39 y 49, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 396, 412 y 431, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 396, 412 y 58, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 397, 413 y 432, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 398, 414 y 433, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 288, 290 y 292, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 302, 304 y 306, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 288, 290 y

292, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 302, 304 y 306, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 289, 291 y 293, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 303, 305 y 307, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 289, 291 y 293, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 303, 305 y 307, respectivamente; o la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 507, 513 y 517, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 589, 590 y 591, respectivamente.

En algunas realizaciones, la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 596, 597 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 598, 599 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente. En algunas realizaciones, la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente.

En algunas realizaciones, la región V_H es o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 u 814-832; y la región V_L es o comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 u 833-849.

En algunas realizaciones, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 116, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 111 y 117, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 119, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 120, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 121, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 122, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 123, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 112 y 124, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 113 y 125, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 114 y 126, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 115 y 127, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 247 y 257, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 248 y 258, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 249 y 259, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 250 y 260, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 251 y 261, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 252 y 262, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 253 y 263, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 254 y 264, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 255 y 265, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 256 y 266, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 256 y 267, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 518 y 534, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 519 y 535, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 115 y 536, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 520 y 264, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o

fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 521 y 537, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 522 y 538, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 523 y 539, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 519 y 540, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 524 y 541, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 525 y 261, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 526 y 542, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 527 y 543, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 528 y 544, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 529 y 545, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 528 y 546, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 522 y 547, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 256 y 548, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530 y 549, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 531 y 550, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 519 y 552, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 553, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 110 y 118, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 533 y 554, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 115 y 555, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 524 y 556, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 519 y 557, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 324 y 326, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 325 y 327, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 609 y 610, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 772 y 775, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 773 y 776, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 774 y 777, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 815 y 833, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 816 y 834, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 817 y 835, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 818 y 836, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 819 y 837, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 820 y 838, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 821 y 839, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 822 y 840, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 823 y 841, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 824 y 842, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 825 y 843, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 826 y 844, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 827 y 845, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 828 y 846, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 829 y 847, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o

fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 830 y 847, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 831 y 848, respectivamente; las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 832 y 849, respectivamente, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las V_H y V_L anteriores, tal como al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con las mismas.

Por ejemplo, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo divulgado en el presente documento comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas de: las SEQ ID NO: 110 y 116; las SEQ ID NO: 111 y 117; las SEQ ID NO: 110 y 118; las SEQ ID NO: 110 y 119; las SEQ ID NO: 110 y 120; las SEQ ID NO: 110 y 121; las SEQ ID NO: 110 y 122; las SEQ ID NO: 110 y 123; las SEQ ID NO: 112 y 124; las SEQ ID NO: 113 y 125; las SEQ ID NO: 114 y 126; las SEQ ID NO: 115 y 127; las SEQ ID NO: 247 y 257; las SEQ ID NO: 248 y 258; las SEQ ID NO: 249 y 259; las SEQ ID NO: 250 y 260; las SEQ ID NO: 251 y 261; las SEQ ID NO: 252 y 262; las SEQ ID NO: 253 y 263; las SEQ ID NO: 254 y 264; las SEQ ID NO: 255 y 265; las SEQ ID NO: 256 y 266; las SEQ ID NO: 256 y 267; las SEQ ID NO: 518 y 534; las SEQ ID NO: 519 y 535; las SEQ ID NO: 115 y 536; las SEQ ID NO: 520 y 264; las SEQ ID NO: 521 y 537; las SEQ ID NO: 522 y 538; las SEQ ID NO: 523 y 539; las SEQ ID NO: 519 y 540; las SEQ ID NO: 524 y 541; las SEQ ID NO: 525 y 261; las SEQ ID NO: 526 y 542; las SEQ ID NO: 527 y 543; las SEQ ID NO: 528 y 544; las SEQ ID NO: 529 y 545; las SEQ ID NO: 528 y 546; las SEQ ID NO: 522 y 547; las SEQ ID NO: 256 y 548; las SEQ ID NO: 530 y 549; las SEQ ID NO: 531 y 550; las SEQ ID NO: 519 y 552; las SEQ ID NO: 110 y 553; las SEQ ID NO: 110 y 118; las SEQ ID NO: 533 y 554; las SEQ ID NO: 115 y 555; las SEQ ID NO: 524 y 556; las SEQ ID NO: 519 y 557, las SEQ ID NO: 324 y 326, las SEQ ID NO: 325 y 327, las SEQ ID NO: 609 y 610; las SEQ ID NO: 617 y 618; las SEQ ID NO: 772 y 775; las SEQ ID NO: 773 y 776; las SEQ ID NO: 774 y 777; las SEQ ID NO: 815 y 833; las SEQ ID NO: 816 y 834; las SEQ ID NO: 817 y 835; las SEQ ID NO: 818 y 836; las SEQ ID NO: 819 y 837; las SEQ ID NO: 820 y 838; las SEQ ID NO: 821 y 839; NO: 822 y 840; las SEQ ID NO: 823 y 841; las SEQ ID NO: 824 y 842; las SEQ ID NO: 825 y 843; las SEQ ID NO: 826 y 844; las SEQ ID NO: 827 y 845; las SEQ ID NO: 828 y 846; las SEQ ID NO: 829 y 847; las SEQ ID NO: 830 y 847; las SEQ ID NO: 831 y 848; y las SEQ ID NO: 832 y 849, respectivamente, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las V_H y V_L anteriores, tal como al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con las mismas, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H y una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de cualquiera de las V_H y V_L anteriores.

En algunas realizaciones, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo divulgado en el presente documento comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas de: las SEQ ID NO: 617 y 618; las SEQ ID NO: 256 y 267; las SEQ ID NO: 519 y 535; las SEQ ID NO: 115 y 536; o las SEQ ID NO: 609 y 610; respectivamente, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las V_H y V_L anteriores, tal como al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con las mismas, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H y una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de cualquiera de las V_H y V_L anteriores.

En algunas realizaciones, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo divulgado en el presente documento comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas de: las SEQ ID NO: 617 y 618, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las V_H y V_L anteriores, tal como al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con las mismas, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H y una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de cualquiera de las V_H y V_L anteriores.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es un fragmento de anticuerpo monocatenario, tal como un fragmento variable monocatenario (scFv) o un diacuerpo o un anticuerpo de dominio único (sdAb). En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo de dominio único que comprende únicamente la región V_H. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un scFv que comprende una región variable de cadena pesada (V_H) y una región variable de cadena ligera (V_L). En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo monocatenario (por ejemplo, scFv) incluye uno o más enlazadores que se unen a dos dominios o regiones de anticuerpos, tal como una región variable de cadena pesada (V_H) y una región variable de cadena ligera (V_L). El enlazador normalmente es un enlazador peptídico, por ejemplo, un enlazador peptídico flexible y/o soluble. Entre los enlazadores se encuentran los ricos en glicina y serina y/o en algunos casos treonina. En algunas realizaciones, los enlazadores incluyen además restos cargados tales como lisina y/o glutamato, que pueden mejorar la solubilidad. En algunas realizaciones, los enlazadores incluyen además una o más prolinas.

En consecuencia, los anticuerpos anti-BCMA divulgados incluyen fragmentos de anticuerpos monocatenarios, tales como scFv y diacuerpos, en particular, fragmentos de anticuerpos monocatenarios humanos, que comprenden normalmente enlazadores que unen dos dominios o regiones de anticuerpos, tales como las regiones V_H y V_L. El

enlazador normalmente es un enlazador peptídico, por ejemplo, un enlazador peptídico flexible y/o soluble, tal como una rica en glicina y serina.

En algunas realizaciones, los enlazadores ricos en glicina y serina (y/o treonina) incluyen al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de dichos aminoácidos. En algunas realizaciones, incluyen al menos o aproximadamente el 50 %, 55 %, 60 %, 70 % o 75 % de glicina, serina y/o treonina. En algunas realizaciones, el enlazador está compuesto sustancialmente por completo de glicina, serina y/o treonina. Los enlazadores generalmente tienen entre aproximadamente 5 y aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, normalmente entre 10, o aproximadamente, y 30, o aproximadamente, por ejemplo, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30, y en algunos ejemplos entre 10 y 25 aminoácidos de longitud. Los enlazadores de ejemplo incluyen enlazadores que tienen diversos números de repeticiones de la secuencia GGGGS (4GS; SEQ ID NO: 359) o GGGS (3GS; SEQ ID NO: 360), tal como entre 2, 3, 4 y 5 repeticiones de dicha secuencia. Los enlazadores de ejemplo incluyen aquellos que tienen o que consisten en una secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 361 (GGGGSGGGGSGGGGS). Los enlazadores de ejemplo incluyen además aquellos que tienen o que consisten en la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 362 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG). Los enlazadores de ejemplo incluyen además aquellos que tienen o que consisten en la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 778 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG).

En consecuencia, en algunas realizaciones, las realizaciones divulgadas incluyen fragmentos de anticuerpos monocatenarios, por ejemplo, scFv, que comprenden uno o más de los enlazadores mencionados anteriormente, tales como enlazadores ricos en glicina/serina, incluyendo enlazadores que tienen repeticiones de GGGS (SEQ ID NO: 360) o GGGGS (SEQ ID NO: 359), tales como el enlazador expuesto en la SEQ ID NO: 361.

En algunas realizaciones, el enlazador tiene una secuencia de aminoácidos que contiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 361. El fragmento, por ejemplo, scFv, puede incluir una región V_H o una porción de la misma, seguida del enlazador, seguida de una región V_L o una porción de la misma. El fragmento, por ejemplo, el scFv, puede incluir la región V_L o una porción de la misma, seguida del enlazador, seguida de la región V_H o una porción de la misma.

En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 478, 128-139, 268-278, 329, 442, 558-576, 578-583, 585, o 769-771 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 478, 128-139, 268-278, 329, 442, 558-576, 578-583, 585 o 769-771.

En algunas realizaciones, un scFv divulgado en el presente documento comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 328, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585, 586 y 769-771, o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %, o aproximadamente, de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 328, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585, 586 y 769-771.

Por ejemplo, el scFv divulgado en el presente documento comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 128, 129, 130, 132, 133, 136, 137, 269, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 328, 329, 442, 478, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583 585, 586, 769, 770, 771, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812 u 813 o que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %, o aproximadamente, de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de la SEQ ID NO: 128, 129, 130, 132, 133, 136, 137, 269, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 328, 329, 442, 478, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583 585, 586, 769, 770, 771, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812 u 813.

La **Tabla 2** divulga las SEQ ID NO: de dominios de unión a antígenos de ejemplo, tales como anticuerpos o fragmentos de unión a antígenos, que pueden estar comprendidos en los receptores de antígenos quiméricos (CAR) anti-BCMA divulgados. En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA contiene un anticuerpo de unión a BCMA o fragmento del mismo, que comprende una región V_H que comprende la secuencia de CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 y una región V_L que comprende la secuencia de CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 expuesta en las SEQ ID NO: enumeradas en cada fila de la **Tabla 2** a continuación (por numeración de Kabat). En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA contiene un anticuerpo de unión a BCMA o fragmento del mismo, que comprende una secuencia de la región V_H y una secuencia de la región V_L expuestas en las SEQ ID NO: enumeradas en cada fila de la **Tabla 2** a continuación, o un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de la región V_H y V_L que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región V_H y la secuencia de la región V_L expuestas en las SEQ ID NO: enumeradas en cada fila de la **Tabla 2** a continuación. En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA contiene un anticuerpo de unión a BCMA o fragmento del mismo, que comprende una secuencia de la región

V_H y una secuencia de la región V_L expuestas en las SEQ ID NO: enumeradas en cada fila de la **Tabla 2** a continuación. En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA contiene un anticuerpo de unión a BCMA o fragmento del mismo, que comprende una secuencia de scFv expuesta en las SEQ ID NO: enumeradas en cada fila de la **Tabla 2** a continuación, o un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de scFv que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de scFv expuesta en las SEQ ID NO: enumeradas en cada fila de la **Tabla 2** a continuación. En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA contiene un anticuerpo de unión a BCMA o fragmento del mismo, que comprende una secuencia de scFv expuesta en las SEQ ID NO: enumeradas en cada fila de la **Tabla 2** a continuación.

Tabla 2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para dominios de unión a antígeno de ejemplo

Dominio de unión a antígeno	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	V_H	V_L	scFv
BCMA-1	1	4	7	26	37	47	110	116	128
BCMA-2	2	5	8	27	38	48	111	117	129
BCMA-3	1	4	7	28	39	49	110	118	130
BCMA-4	1	4	7	29	40	50	110	119	131
BCMA-5	1	4	7	30	39	51	110	120	132
BCMA-6	1	4	7	31	41	52	110	121	133
BCMA-7	1	4	7	32	42	53	110	122	134
BCMA-8	1	4	7	30	39	54	110	123	135
BCMA-9	2	5	9	33	43	55	112	124	136
BCMA-10	2	5	10	34	44	56	113	125	137
BCMA-11	3	6	11	35	45	57	114	126	138
BCMA-12	2	5	10	36	46	58	115	127	139
BCMA-13	140	145	149	174	179	184	247	257	268
BCMA-14	141	145	149	174	179	185	248	258	269
BCMA-15	141	145	150	174	179	186	249	259	270
BCMA-16	142	146	151	174	179	187	250	260	271
BCMA-17	2	5	152	175	180	188	251	261	272
BCMA-18	143	147	153	174	179	189	252	262	273
BCMA-19	144	148	154	176	181	190	253	263	274
BCMA-20	3	6	155	177	182	191	254	264	275
BCMA-21	2	5	156	174	179	192	255	265	276
BCMA-22	2	5	157	178	183	193	256	266	277
BCMA-23	2	5	157	178	183	194	256	267	278
BCMA-24	2	6	376	30	399	415	518	534	558
BCMA-25	1	4	7	380	400	416	519	535	559
BCMA-26	2	5	10	33	43	421	115	536	560
BCMA-27	3	6	155	177	182	191	520	264	561
BCMA-28	3	372	376	381	401	417	521	537	562
BCMA-29	3	6	376	382	402	418	522	538	563
BCMA-30	3	6	377	383	403	419	523	539	564

(continuación)

Tabla 2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para dominios de unión a antígeno de ejemplo									
Dominio de unión a antígeno	**CDR-H1**	**CDR-H2**	**CDR-H3**	**CDR-L1**	**CDR-L2**	**CDR-L3**	**V_H**	**V_L**	**scFv**
BCMA-31	1	4	7	384	39	54	519	540	565
BCMA-32	2	5	10	385	180	58	524	541	566
BCMA-33	2	373	152	175	180	188	525	261	567
BCMA-34	3	6	11	386	404	420	526	542	568
BCMA-35	2	5	378	33	43	421	527	543	569
BCMA-36	2	5	9	387	405	422	528	544	570
BCMA-37	2	5	9	388	406	423	529	545	571
BCMA-38	2	5	9	388	407	424	528	546	572
BCMA-39	3	6	376	389	408	425	522	547	573
BCMA-40	2	5	157	390	183	193	256	548	574
BCMA-41	2	374	9	391	409	426	530	549	575
BCMA-42	1	4	7	392	40	427	531	550	576
BCMA-44	1	4	7	394	39	429	519	552	578
BCMA-45	1	4	7	395	411	430	110	553	579
BCMA-46	1	4	7	28	39	49	110	118	130
BCMA-47	2	5	10	396	412	431	533	554	580
BCMA-48	2	5	10	396	412	58	115	555	581
BCMA-49	2	5	10	397	413	432	524	556	582
BCMA-51	1	4	7	398	414	433	519	557	583
BCMA-52	507	513	517	589	590	591	609	610	442
BCMA-55	593	594	595	601	602	603	617	618	478
BCMA-C1, VH-VL	288	290	292	302	304	306	324	326	585
BCMA-C1, VL-VH	288	290	292	302	304	306	324	326	328
BCMA-C2, VH-VL	289	291	293	303	305	307	325	327	329
BCMA-C2, VL-VH	289	291	293	303	305	307	325	327	586
BCMA-D1							772	775	769
BCMA-D2							773	776	770
BCMA-D3							774	777	771
BCMA-D4							814		
BCMA-D5							815	833	781
BCMA-D6							816	834	782
BCMA-D7							816	834	783
BCMA-D8							817	835	784
BCMA-D9							817	835	785
BCMA-D10							818	836	786

(continuación)

Tabla 2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para dominios de unión a antígeno de ejemplo									
Dominio de unión a antígeno	**CDR-H1**	**CDR-H2**	**CDR-H3**	**CDR-L1**	**CDR-L2**	**CDR-L3**	**V_H**	**V_L**	**scFv**
BCMA-D11							818	836	787
BCMA-D12							819	837	788
BCMA-D13							819	837	789
BCMA-D14							820	838	790
BCMA-D15							820	838	791
BCMA-D16							821	839	792
BCMA-D17							821	839	793
BCMA-D18							822	840	794
BCMA-D19							822	840	795
BCMA-D20							823	841	796
BCMA-D21							823	841	797
BCMA-D22							824	842	798
BCMA-D23							824	842	799
BCMA-D24							824	842	800
BCMA-D25							825	843	801
BCMA-D26							826	844	802
BCMA-D27							827	845	803
BCMA-D28							828	846	804
BCMA-D29									805
BCMA-D30							829	847	806
BCMA-D31							830	847	807
BCMA-D32							831	848	808
BCMA-D33							832	849	809
BCMA-D34									810
BCMA-D35							832	849	811
BCMA-D36							831	848	812
BCMA-D37									813

Entre los anticuerpos, por ejemplo, los fragmentos de unión a antígenos, en los CAR divulgados, son anticuerpos humanos. En algunas realizaciones de un anticuerpo humano anti-BCMA divulgado, por ejemplo, los fragmentos de unión a antígeno, el anticuerpo humano contiene una región V_H que comprende una porción que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento V de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal, una porción que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento D de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal, y/o una porción que tiene al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento J de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal; y/o contiene una región V_L que comprende una porción que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento V de cadena kappa o lambda de nucleótidos de estirpe germinal, y/o una porción que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento J de cadena kappa o lambda de nucleótidos de estirpe germinal humana. En algunas realizaciones, la porción de la región V_H se corresponde con la CDR-H1, una CDR-H2

y/o una CDR-H3. En algunas realizaciones, la porción de la región V_H corresponde a la región marco conservada 1 (FR1), FR2, FR2 y/o FR4. En algunas realizaciones, la porción de la región V_L se corresponde con la CDR-L1, una CDR-L2 y/o una CDR-L3. En algunas realizaciones, la porción de la región V_L se corresponde con la FR1, FR2, FR2 y/o FR4.

En algunas realizaciones, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una CDR-H1 que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la correspondiente región CDR-H1 dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano en algunas realizaciones contiene una CDR-H1 que tiene una secuencia que es un 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la correspondiente región CDR-H1 dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una CDR-H2 que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la correspondiente región CDR-H2 dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano en algunas realizaciones contiene una CDR-H2 que tiene una secuencia que es un 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la correspondiente región CDR-H2 dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una CDR-H3 que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la correspondiente región CDR-H3 dentro de una secuencia codificada por un segmento V, un segmento D y un segmento J de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano en algunas realizaciones contiene una CDR-H3 que tiene una secuencia que es un 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la correspondiente región CDR-H3 dentro de una secuencia codificada por un segmento V, un segmento D y un segmento J de cadena pesada humana de nucleótidos de estirpe germinal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una CDR-L1 que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la correspondiente región CDR-L1 dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena ligera humana de nucleótidos de estirpe germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano en algunas realizaciones contiene una CDR-L1 que tiene una secuencia que es un 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la correspondiente región CDR-L1 dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena ligera humana de nucleótidos de estirpe germinal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una CDR-L2 que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la correspondiente región CDR-L2 dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena ligera humana de nucleótidos de estirpe germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano en algunas realizaciones contiene una CDR-L2 que tiene una secuencia que es un 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la correspondiente región CDR-L2 dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena ligera humana de nucleótidos de estirpe germinal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una CDR-L3 que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de la correspondiente región CDR-L3 dentro de una secuencia codificada por un segmento V y un segmento J de cadena ligera humana de nucleótidos de estirpe germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano en algunas realizaciones contiene una CDR-L3 que tiene una secuencia que es un 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la correspondiente región CDR-L3 dentro de una secuencia codificada por un segmento V y un segmento J de cadena ligera humana de nucleótidos de estirpe germinal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, contiene una región marco conservada que contiene secuencias de segmentos de genes de estirpe germinal humana. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo humano contiene una región V_H en la que la región marco conservada, por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y FR4, tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una región marco conservada codificada por un segmento de anticuerpo de estirpe germinal humana, tal como un segmento V y/o un segmento J. En algunas realizaciones, el anticuerpo humano contiene una región V_L en la que la región marco conservada, por ejemplo, FR1, FR2, una FR3 y una FR4, tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una región marco conservada codificada por un segmento de anticuerpo de estirpe germinal humana, tal como un segmento V y/o un segmento J. Por ejemplo, en algunas de dichas realizaciones, la secuencia de la región marco conservada contenida dentro de la región V_H y/o la región V_L no difiere en más de 10 aminoácidos, tal como no más de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácidos, en comparación con la secuencia de región marco conservada codificada por un segmento de anticuerpo de estirpe germinal humana.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de referencia puede ser un scFv anti-BCMA de ratón descrito en la Pub. de sol. de Patente internacional N.º WO 2010/104949.

El anticuerpo, por ejemplo, fragmento de unión a antígeno, puede contener al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina, tal como uno o más dominios de región constante. En algunas realizaciones, las regiones constantes incluyen una región constante de cadena ligera y/o una región 1 constante de cadena pesada (C_H1). En algunas realizaciones, el anticuerpo incluye un dominio C_H2 y/o C_H3, tal como una región Fc. En algunas realizaciones, la región Fc es una región Fc de una IgG humana, tal como una IgG1 o IgG4.

2. Espaciador

El CAR que comprende un anticuerpo (por ejemplo, fragmento de unión a antígeno) divulgado en el presente documento, incluye además un espaciador o región espaciadora, como se reivindica. El espaciador normalmente es un espaciador polipeptídico y en general está ubicado dentro del CAR entre el dominio de unión a antígeno y el dominio transmembrana del CAR. En algunas realizaciones, el espaciador reivindicado puede ser o incluir al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina o una variante o versión modificada de la misma, tal como una región bisagra de una inmunoglobulina, tal como una región bisagra de IgG, por ejemplo, una región bisagra de dIgG4 o derivada de IgG4, y/o una región C_H1/CL y/o Fc. En algunas realizaciones, la región constante o una o más de la porción o porciones de la misma es de una IgG humana, tal como de una IgG4 o IgG1 o IgG2 humana. En general, el espaciador, tal como la porción de la región constante, sirve de región espaciadora entre el componente de reconocimiento de antígeno (por ejemplo, scFv) y el dominio transmembrana. En algunas realizaciones, la longitud y/o la composición del espaciador como se reivindica se diseñan para optimizar o promover determinadas características de la interacción entre el CAR y su diana; en algunas realizaciones, se diseñan para optimizar la distancia de sinapsis biofísica entre la célula que expresa el CAR y la célula que expresa la diana del CAR durante o tras la unión del CAR a su diana en la célula que expresa la diana; en algunas realizaciones, la célula que expresa la diana es una célula tumoral que expresa BCMA. En algunas realizaciones, El CAR es expresado por un linfocito T, y la longitud del espaciador como se reivindica es de una longitud que es compatible para la activación de linfocitos T o para optimizar el rendimiento de los linfocitos T CAR. En algunas realizaciones, el espaciador como se reivindica es una región espaciadora, ubicada entre el dominio de unión a ligando y el dominio transmembrana, del CAR. En algunas realizaciones, la región espaciadora como se reivindica es una región ubicada entre el dominio de unión al ligando y el dominio transmembrana, del CAR.

En algunas realizaciones, el espaciador como se reivindica puede tener una longitud que proporcione una mayor capacidad de respuesta de la célula después de la unión del antígeno, en comparación con la ausencia del espaciador y/o en presencia de un espaciador diferente, tal como uno diferente sólo en longitud. En algunos casos descritos en el presente documento, el espaciador tiene al menos 100 aminoácidos de longitud, tal como al menos 110, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240 o 250 aminoácidos de longitud. En algunos casos descritos en el presente documento, el espaciador tiene o tiene aproximadamente 12 aminoácidos de longitud o no tiene más de 12 aminoácidos de longitud. Los espaciadores de ejemplo incluyen aquellos que tienen al menos aproximadamente de 10 a 300 aminoácidos, aproximadamente de 10 a 200 aminoácidos, aproximadamente de 50 a 175 aminoácidos, aproximadamente de 50 a 150 aminoácidos, aproximadamente de 10 a 125 aminoácidos, aproximadamente de 50 a 100 aminoácidos, aproximadamente de 100 a 300 aminoácidos, aproximadamente de 100 a 250 aminoácidos, aproximadamente de 125 a 250 aminoácidos o aproximadamente de 200 a 250 aminoácidos e incluyen cualquier número entero entre los extremos de cualquiera de los intervalos enumerados. En algunos casos descritos en el presente documento, un espaciador o región espaciadora tiene al menos aproximadamente 12 aminoácidos, al menos aproximadamente 119 aminoácidos o menos, al menos aproximadamente 125 aminoácidos, al menos de aproximadamente 200 aminoácidos o al menos aproximadamente 220 aminoácidos, o al menos aproximadamente 225 aminoácidos de longitud.

En algunas realizaciones, el espaciador tiene una longitud de 125 a 300 aminoácidos de longitud, de 125 a 250 aminoácidos de longitud, de 125 a 230 aminoácidos de longitud, de 125 a 200 aminoácidos de longitud, de 125 a 180 aminoácidos de longitud, de 125 a 150 aminoácidos de longitud, de 150 a 300 aminoácidos de longitud, de 150 a 250 aminoácidos de longitud, de 150 a 230 aminoácidos de longitud, de 150 a 200 aminoácidos de longitud, de 150 a 180 aminoácidos de longitud, de 180 a 300 aminoácidos de longitud, de 180 a 250 aminoácidos de longitud, de 180 a 230 aminoácidos de longitud, de 180 a 200 aminoácidos de longitud, de 200 a 300 aminoácidos de longitud, de 200 a 250 aminoácidos de longitud, de 200 a 230 aminoácidos de longitud, de 230 a 300 aminoácidos de longitud, de 230 a 250 aminoácidos de longitud o de 250 a 300 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, el espaciador tiene al menos o al menos aproximadamente o tiene o tiene aproximadamente 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 o 229 aminoácidos de longitud, o una longitud entre cualquiera de las anteriores.

Los espaciadores de ejemplo incluyen aquellos que contienen una o más porciones de una región constante de inmunoglobulina tales como aquellos que contienen una bisagra de Ig, tal como un dominio de bisagra de IgG. En algunas realizaciones, el espaciador incluye una bisagra de IgG sola, una bisagra de IgG unida a uno o más de los dominios C_H2 y C_H3, o una bisagra de IgG unida al dominio C_H3. En algunas realizaciones, la bisagra de IgG, C_H2 y/o

C_H3 pueden derivar total o parcialmente de IgG4 o IgG2. En algunas realizaciones, el espaciador puede ser un polipéptido quimérico que contenga uno o más de una bisagra, una o más secuencias C_H2 y/o C_H3 derivadas de IgG4, IgG2, y/o IgG2 e IgG4. En algunas realizaciones, la región bisagra comprende la totalidad o una porción de una región bisagra de IgG4 y/o de una región bisagra de IgG2, en donde la región bisagra de IgG4 es opcionalmente una región bisagra de IgG4 humana y la región bisagra de IgG2 es opcionalmente una región bisagra de IgG2 humana; la región C_H2 comprende la totalidad o una porción de una región C_H2 de IgG4 y/o de una región C_H2 de IgG2, en donde la región C_H2 de IgG4 es opcionalmente una región C_H2 de IgG4 humana y la región C_H2 de IgG2 es opcionalmente una región C_H2 de IgG2 humana; y/o la región C_H3 comprende la totalidad o una porción de una región C_H3 de IgG4 y/o de una región C_H3 de IgG2, en donde la región C_H3 de IgG4 es opcionalmente una región C_H3 de IgG4 humana y la región C_H3 de IgG2 es opcionalmente una región C_H3 de IgG2 humana. En algunas realizaciones, la bisagra, C_H2 y C_H3 comprenden la totalidad o una porción de cada una de entre una región de bisagra, C_H2 y C_H3 de IgG4. En algunas realizaciones, la región bisagra es quimérica y comprende una región bisagra de IgG4 humana e IgG2 humana; la región C_H2 es quimérica y comprende una región C_H2 de IgG4 humana e IgG2 humana; y/o la región C_H3 es quimérica y comprende una región C_H3 de IgG4 humana e IgG2 humana. En algunas realizaciones, el espaciador comprende una bisagra quimérica de IgG4/2 o una bisagra de IgG4 modificada que comprende al menos una sustitución de aminoácido en comparación con la región bisagra de IgG4 humana; una región C_H2 quimérica de IgG2/4 humana; y una región C_H3 de IgG4 humana.

En algunas realizaciones, el espaciador puede derivar total o parcialmente de IgG4 y/o IgG2 y puede contener mutaciones, tales como una o más mutaciones de un único aminoácido en uno o más dominios. En algunos ejemplos, la modificación de aminoácidos es una sustitución de una serina (S) por una prolina (P) en la región bisagra de una IgG4. En algunas realizaciones, la modificación de aminoácidos es una sustitución de una asparagina (N) por una glutamina (Q) para reducir la heterogeneidad de la glicosilación, tal como una mutación N177Q en la posición 177, en la región C_H2, de la secuencia Fc de IgG4 de longitud completa expuesta en la SEQ ID NO: 750 o una N176Q en la posición 176, en la región C_H2, de la secuencia Fc de IgG2 de longitud completa expuesta en la SEQ ID NO: 749. En algunas realizaciones, el espaciador es o comprende una bisagra quimérica de IgG4/2 o una bisagra de IgG4 modificada; una región C_H2 quimérica de IgG2/4; y una región C_H3 de IgG4 y opcionalmente tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud; o un espaciador expuesto en la SEQ ID NO: 649. En algunas realizaciones, el espaciador comprende la secuencia de aminoácidos

ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG

VEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP

REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF

LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 649)

codificada por un polinucleótido que se ha optimizado para la expresión de codones y/o para eliminar sitios de corte y empalme tales como sitios de corte y empalme crípticos. En algunas realizaciones, la secuencia codificante para el espaciador comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 622. En algunas realizaciones, la secuencia codificante para el espaciador comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 855 u 856.

Los espaciadores de ejemplo adicionales incluyen, pero sin limitación, los descritos en Hudecek *et al.* (2013) Clin. Cancer Res., 19:3153, Hudecek *et al.* (2015) Cancer Immunol. Res., 3(2):125-135 o la publicación de solicitud de patente internacional número WO2014031687. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos del espaciador está optimizada para reducir la heterogeneidad del ARN después de la expresión. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos del espaciador está optimizada para reducir los sitios de corte y empalme crípticos o reducir la probabilidad de un evento de corte y empalme en un sitio de corte y empalme.

En algunas realizaciones, el espaciador tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 363 y está codificada por la secuencia polinucleotídica expuesta en la SEQ ID NO: 364. En algunos casos descritos en el presente documento, el espaciador tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 365. En algunos casos descritos en el presente documento, el espaciador tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 366. En algunos casos descritos en el presente documento, el espaciador tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 630 y está codificada por la secuencia polinucleotídica expuesta en la SEQ ID NO: 629. En algunas realizaciones, el espaciador tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 649, codificada por la secuencia polinucleotídica expuesta en la SEQ ID NO: 621,622, 855 u 856 o un polinucleótido que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 621, 622, 855 u 856. En algunas realizaciones, el espaciador tiene una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 649, codificada por un polinucleótido que se ha optimizado opcionalmente para el uso de codones y/o para reducir la heterogeneidad del ARN.

En algunas realizaciones, el espaciador es o comprende una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 622.

3. Dominio transmembrana y componentes de señalización intracelular

El componente de reconocimiento de antígeno generalmente está unido a una o más regiones de señalización intracelular que contienen componentes de señalización, tales como componentes de señalización que imitan la estimulación y/o activación a través de un complejo de receptor de antígenos, tal como un complejo de TCR, en el caso de un CAR, y/o señal a través de otro receptor de superficie celular. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la molécula de unión a BCMA (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo) está unida a uno o más dominios transmembrana tales como aquellos descritos en el presente documento y a regiones o dominios de señalización intracelular que comprenden uno o más componentes intracelulares tales como aquellos descritos en el presente documento. En algunos casos descritos en el presente documento, el dominio transmembrana se fusiona con el dominio extracelular. En un caso, se usa un dominio transmembrana que se asocia de forma natural a uno de los dominios en el CAR. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana se selecciona o se modifica mediante sustitución de aminoácidos para evitar la unión de dichos dominios a los dominios transmembrana de las mismas proteínas de membrana de superficie o diferentes para minimizar las interacciones con otros miembros del complejo receptor.

El dominio transmembrana en algunas realizaciones proviene de una fuente natural o de una fuente sintética. Cuando la fuente es natural, el dominio, en algunas realizaciones, deriva de cualquier proteína unida a la membrana o transmembrana. Los dominios transmembrana incluyen aquellos derivados de (es decir, que comprenden al menos el dominio o dominios transmembrana de) la cadena alfa, beta o zeta del receptor de linfocitos T, CD3 épsilon, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 y/o CD154. Por ejemplo, el dominio transmembrana puede ser un dominio transmembrana de CD28 que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 624, codificada por la secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 623 o la SEQ ID NO: 688. Como alternativa, el dominio transmembrana en algunas realizaciones es sintético. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana sintético comprende predominantemente restos hidrófobos tales como leucina y valina. En algunas realizaciones, se encontrará un triplete de fenilalanina, triptófano y valina en cada extremo de un dominio transmembrana sintético. En algunas realizaciones, el enlace es por enlazadores, espaciadores y/o dominio(s) transmembrana.

Entre las regiones o dominios de señalización intracelular se encuentran aquellos que imitan o se aproximan a una señal a través de un receptor de antígeno natural, una señal a través de un receptor de este tipo junto con un receptor coestimulador, y/o una señal a través de un receptor coestimulador solo. En algunas realizaciones, hay presente un enlazador de oligopéptido o polipeptídico corto, por ejemplo, un enlazador de entre 2 y 10 aminoácidos de longitud, tal como uno que contiene glicinas y serinas, por ejemplo, un doblete de glicina-serina, y forma una unión entre el dominio transmembrana y el dominio de señalización citoplásmica del CAR.

El CAR, incluye generalmente una región de señalización intracelular que comprende al menos un componente o componentes de señalización intracelular. En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico incluye un componente intracelular o un dominio de señalización de un complejo de TCR, tal como una cadena de CD3 de TCR que media la activación y citotoxicidad de los linfocitos T, por ejemplo, la cadena zeta de CD3. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el dominio de unión a BCMA está unido a uno o más módulos de señalización celular. En algunas realizaciones, los módulos de señalización celular incluyen el dominio transmembrana de CD3, los dominios de señalización intracelular de CD3 y/u otros dominios transmembrana de CD. En algunas realizaciones, el CAR incluye además una porción de una o más moléculas adicionales tales como el receptor de dFc γ, CD8, CD4, CD25 o CD16. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el CAR incluye una molécula quimérica entre CD3-zeta (CD3-ζ) o el receptor de Fc γ y CD8, CD4, CD25 o CD 16.

En algunas realizaciones, durante o después de la ligadura del CAR, el dominio citoplásmico o el dominio de señalización intracelular del CAR estimula y/o activa al menos una de las funciones efectoras normales o respuestas de la célula inmunitaria, por ejemplo, un linfocito T modificado por ingeniería para expresar el CAR. Por ejemplo, en algunos contextos, el CAR induce una función de un linfocito T, tal como la actividad citolítica o la actividad de los linfocitos T auxiliares, tal como la secreción de citocinas u otros factores. En algunas realizaciones, se usa una porción truncada de un dominio de señalización intracelular de un componente del receptor de antígenos o molécula coestimuladora en lugar de una cadena inmunoestimuladora inalterada, por ejemplo, si transduce la señal de función efectora. En algunas realizaciones, el dominio o dominios de señalización intracelular incluyen las secuencias citoplasmáticas del receptor de linfocitos T (TCR) y, en algunas realizaciones, también las de los correceptores que, en el contexto natural, actúan en concierto con dicho receptor para iniciar la transducción de señales después de la participación del receptor de antígenos, y/o cualquier derivado o variante de dichas moléculas, y/o cualquier secuencia sintética que tenga la misma capacidad funcional.

En el contexto de un TCR natural, la activación total generalmente requiere no sólo la señalización a través del TCR, sino también una señal coestimuladora. Por lo tanto, en algunas realizaciones, para promover la activación total, también se incluye en el CAR un componente para generar una señal secundaria o coestimuladora. En otras

realizaciones, el CAR no incluye un componente para generar una señal coestimuladora. En algunas realizaciones, un CAR adicional se expresa en la misma célula y proporciona el componente para generar la señal secundaria o coestimuladora.

La activación de los linfocitos T se describe en algunas realizaciones como mediada por dos clases de secuencias de señalización citoplasmática: aquellas que inician la activación primaria dependiente de antígeno a través del TCR (secuencias de señalización citoplasmáticas primarias) y aquellas que actúan independientemente del antígeno para proporcionar una señal secundaria o coestimuladora (secuencias de señalización citoplasmáticas secundarias). En algunas realizaciones, el CAR incluye una o ambas de dichas clases de secuencias de señalización citoplasmática.

En algunas realizaciones, el CAR incluye una secuencia de señalización citoplasmática primaria que regula la estimulación y/o activación primaria del complejo de TCR. Las secuencias de señalización citoplasmáticas primarias que actúan de manera estimuladora pueden contener motivos de señalización que se conocen como motivos de activación de inmunorreceptores a base de tirosina o ITAM. Los ejemplos de ITAM que contienen secuencias de señalización citoplasmáticas primarias incluyen los derivadas de TCR o CD3 zeta, FcR gamma, CD3 gamma, CD3 delta y CD3 épsilon. En algunas realizaciones, la región o dominio de señalización intracelular en el CAR contiene un dominio de señalización citoplasmática, una porción del mismo o una secuencia derivada de CD3 zeta. En algunas realizaciones, el CD3 zeta comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 628, codificada por la secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 627 o la SEQ ID NO: 652.

En algunas realizaciones, el CAR incluye un dominio de señalización (por ejemplo, un dominio de señalización intracelular o citoplasmático) y/o una porción transmembrana de una molécula coestimuladora, tal como una molécula coestimuladora de linfocitos T. Las moléculas coestimuladoras de ejemplo incluyen CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 e ICOS. Por ejemplo, una molécula coestimuladora puede derivar de 4-1BB y puede comprender la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 626, codificada por la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 625 o la SEQ ID NO: 681. En algunas realizaciones, el mismo CAR incluye tanto los componentes estimuladores o activadores (por ejemplo, secuencia de señalización citoplasmática) como los componentes coestimuladores.

En algunas realizaciones, los componentes estimuladores o activadores están incluidos dentro de un CAR, mientras que el componente coestimulador lo proporciona otro CAR que reconoce otro antígeno. En algunas realizaciones, los CAR incluyen CAR activadores o estimuladores y CAR coestimuladores, ambos expresados en la misma célula (véase el documento WO2014/055668). En algunas realizaciones, el CAR que se dirige a BCMA es el CAR estimulador o activador; en otras realizaciones, es el CAR coestimulador. En algunas realizaciones, las células incluyen además CAR inhibidores (iCAR, véase Fedorov *et al.*, Sci. Transl. Medicine, 5(215) (Diciembre de 2013), tal como un CAR que reconoce un antígeno distinto de BCMA, por lo que una señal estimuladora o de activación suministrada a través del CAR que se dirige a BCMA disminuye o se inhibe por la unión del CAR inhibidor a su ligando, por ejemplo, para reducir los efectos inespecíficos.

En determinadas realizaciones, la región de señalización intracelular comprende un dominio transmembrana de CD28 y un dominio de señalización unido a un dominio intracelular de CD3 (por ejemplo, CD3-zeta). En algunas realizaciones, el dominio de señalización intracelular comprende dominios coestimuladores CD28 y CD137 (4-1BB, TNFRSF9) quiméricos, unidos a un dominio intracelular CD3 zeta.

En algunas realizaciones, el CAR abarca uno o más, por ejemplo, dos o más, dominios coestimuladores y un dominio estimulador o de activación, por ejemplo, un dominio de activación primario, en la porción citoplásmica. Los CAR de ejemplo incluyen componentes intracelulares de CD3-zeta, CD28 y 4-1BB.

El receptor de antígeno quimérico comprende: (a) un dominio de unión a antígeno extracelular que reconoce específicamente el antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), tal como cualquier dominio de unión a antígeno descrito en el presente documento; (b) un espaciador de al menos 125 aminoácidos de longitud; (c) un dominio transmembrana; y (d) una región de señalización intracelular, como se reivindica. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende una región V_H y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende una región V_H que es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H de la SEQ ID NO: 617; y una región V_L que es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L de la SEQ ID NO: 618. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las SEQ ID NO: 596, 597 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una

CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las SEQ ID NO: 598, 599 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende una región V_H que es o comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 617; y una región V_L que es o comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 618. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 478. En algunas realizaciones, la región de señalización intracelular incluye un dominio de señalización citoplasmática estimulador. En algunas realizaciones, el dominio de señalización citoplasmática estimulador es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) y/o incluye un motivo de activación inmunorreceptor a base de tirosina (ITAM). En algunas realizaciones, el dominio de señalización citoplasmática estimulador es o incluye un dominio de señalización citoplasmática de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de la misma. En algunas realizaciones, el dominio citoplasmático estimulador es humano o deriva de una proteína humana. En algunas realizaciones, el dominio citoplasmático estimulador es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 628 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 628. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio citoplasmático estimulador es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 627 o es una secuencia con codones optimizados y/o una secuencia degenerada de la misma. En otras realizaciones, el ácido nucleico que codifica el dominio de señalización citoplasmática estimulador es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 652. En algunas realizaciones, la región de señalización intracelular incluye además una región de señalización coestimuladora. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora incluye un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora de linfocitos T o una porción de señalización de la misma. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora incluye un dominio de señalización intracelular de un CD28, un 4-1BB o un ICOS o una porción de señalización de los mismos. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora incluye un dominio de señalización intracelular de 4-1BB. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora es humana o deriva de una proteína humana. En otras realizaciones, la región de señalización coestimuladora es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 626 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 626. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica la región coestimuladora es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 625 o es una secuencia con codones optimizados y/o una secuencia degenerada de la misma. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica la región de señalización coestimuladora incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 681. En algunas realizaciones, la región de señalización coestimuladora está entre el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana es o incluye un dominio transmembrana derivado de CD4, CD28 o CD8. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana es o incluye un dominio transmembrana derivado de un CD28. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana es humano o deriva de una proteína humana. En otras realizaciones, el dominio transmembrana es o incluye la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 624 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 624.

En algunas realizaciones, los receptores de antígenos quiméricos comprenden: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente al antígeno de maduración de linfocitos B humano (BCMA), en donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende: (i) una cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región V_H de la SEQ ID NO: 617; y (ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de la región V_L de cualquiera de la SEQ ID NO: 618; (2) un espaciador expuesto en la SEQ ID NO: 649 o en donde el ácido nucleico que codifica el espaciador es o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 622; (3) un dominio transmembrana, opcionalmente un dominio transmembrana de un CD28 humano; y (4) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización citoplasmática de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) y un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora de linfocitos T. También se divulgan polinucleótidos que codifican un receptor de antígeno quimérico de este tipo.

En algunas realizaciones, la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de la región V_H de la SEQ ID NO: 617; y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de la región V_L de la SEQ ID NO: 618; o la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 596, 597 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 598, 599 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2

y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente.

En algunas realizaciones, los receptores de antígenos quiméricos comprenden: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente al antígeno de maduración de linfocitos B humano (BCMA), en donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende: una región pesada variable (V_H) que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de la región V_H de la SEQ ID NO: 617; y una región ligera variable (V_L) que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de la región V_L de la SEQ ID NO: 618; o la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de la región V_H de la SEQ ID NO: 617; y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de la región V_L de la SEQ ID NO: 618; o la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 596, 597 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 598, 599 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden la secuencia de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente; (2) un espaciador expuesto en la SEQ ID NO: 649 o en donde el ácido nucleico que codifica el espaciador es o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 622; (3) un dominio transmembrana, opcionalmente un dominio transmembrana de un CD28 humano; y (4) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización citoplasmática de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) humana y un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora de linfocitos T, opcionalmente de un 4-1BB humano o un CD28 humano. También se divulgan polinucleótidos que codifican un receptor de antígeno quimérico de este tipo. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la secuencia de la región V_H de la SEQ ID NO: 617 y la secuencia de la región V_L de la SEQ ID NO: 618. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de dicho receptor de antígeno quimérico, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 478. En algunas realizaciones, otros dominios, regiones o componentes del receptor de antígeno quimérico incluye cualesquier dominios, regiones o componentes descritos en el presente documento.

4. Marcador indirecto

En algunas realizaciones, el CAR incluye además un marcador indirecto, tal como un marcador de superficie celular (por ejemplo, un marcador de superficie celular truncado), que puede usarse para confirmar la transducción o la modificación genética de la célula para expresar el receptor. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se utilizan genes marcadores extrínsecos en relación con terapias con células modificadas por ingeniería para permitir la detección o selección de células y, en algunos casos, también para promover el suicidio celular por ADCC. Algunos genes marcadores de ejemplo incluyen el receptor truncado del factor de crecimiento epidérmico (EGFRt), que puede coexpresarse con un transgén de interés (por ejemplo, el CAR) en células transducidas (véase, por ejemplo, la Patente de los EE. UU. N.º 8.802.374). EGFRt contiene un epítopo reconocido por el anticuerpo cetuximab (Erbitux®). Por este motivo, Erbitux® puede usarse para identificar o seleccionar células que se han modificado por ingeniería con la construcción de EGFRt, incluyendo en células también comodificadas por ingeniería con otro receptor recombinante, tal como un receptor de antígeno quimérico (CAR). Adicionalmente, el EGFRt se usa habitualmente como mecanismo suicida en relación con terapias celulares. En algunas realizaciones, cuando el EGFRt se coexpresa en células con un transgén de interés (por ejemplo, el CAR), puede ser dirigido por el anticuerpo monoclonal cetuximab para reducir o agotar las células modificadas por ingeniería transferidas a través de ADCC (véase la Patente de los EE. UU. N.º 8.802.374 y Liu *et al.*, Nature Biotech. abril de 2016; 34(4): 430-434). Cabe destacar que, el enfoque de destrucción por suicidio usando tEGFR requiere la disponibilidad del epítopo del anticuerpo. Otro ejemplo de un gen marcador de este tipo es el antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) o una forma modificada del mismo. El PSMA o formas modificadas de mismo pueden comprender una secuencia de aminoácidos unidos o reconocidos por una molécula dirigida al PSMA, tal como un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Las moléculas dirigidas a PSMA pueden usarse para identificar o seleccionar células que se han modificado con una construcción de PSMA o modificada, incluyendo en células también comodificadas por ingeniería con otro receptor recombinante, tal como un receptor de antígeno quimérico (CAR) divulgado en el presente documento. En algunas realizaciones, el marcador incluye todo o parte (por ejemplo, la forma truncada) de CD34, un receptor del factor de crecimiento nervioso (NGFR), el receptor del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, EGFR) o PSMA.

Los marcadores indirectos de ejemplo pueden incluir formas truncadas de polipéptidos de la superficie celular, tales como formas truncadas que no son funcionales y no transducen o no son capaces de transducir una señal o una señal transducida habitualmente por la forma de longitud completa del polipéptido de superficie celular, y/o no se internalizan o no son capaces de internalizarse. Como ejemplos de polipéptidos truncados de la superficie celular se incluyen formas truncadas de factores de crecimiento o de otros receptores, tal como de un receptor 2 del factor de crecimiento

epidérmico humano truncado (tHER2), un receptor del factor de crecimiento epidérmico truncado (tEGFR, la secuencia de ejemplo de tEGFR se expone en la SEQ ID NO: 11 o 76) o un antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) o una forma modificada del mismo. El tEGFR puede contener un epítopo que reconoce el anticuerpo cetuximab (Erbitux®) u otro anticuerpo terapéutico anti-EGFR o molécula de unión, que puede utilizarse para identificar o seleccionar células que se han modificado por ingeniería con la construcción tEGFR y una proteína exógena codificada, y/o para eliminar o separar células que expresan la proteína exógena codificada. Véase la patente de Estados Unidos. N.º 8802374 y Liu *et al.*, Nature Biotech. abril de 2016; 34(4): 430-434). En algunas realizaciones, el marcador, por ejemplo, marcador indirecto, incluye todo o parte (por ejemplo, la forma truncada) de CD34, un NGFR, un CD19 o un CD19 truncado, por ejemplo, un CD19 no humano truncado, o un receptor del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, tEGFR). En algunas realizaciones, el marcador es o comprende una proteína fluorescente, tal como la proteína verde fluorescente (GFP, *green fluorescent protein*), la proteína fluorescente verde mejorada (EGFP, *enhanced green fluorescent protein*), tal como la GFP superplegada (sfGFP, *super-fold GFP*), la proteína roja fluorescente (RFP, *red fluorescent protein*), tal como tdTomato, mCherry, mStrawberry, AsRed2, DsRed o DsRed2, la proteína fluorescente cian (CFP, *cyan fluorescent protein*), la proteína fluorescente verde azulada (BFP, *blue green fluorescent protein*), la proteína fluorescente azul mejorada (EBFP, *enhanced blue fluorescent protein*) y la proteína fluorescente amarilla (YFP, *yellow fluorescent protein*) así como sus variantes, incluyendo las variantes de especies, las variantes monoméricas y la variantes optimizadas y/o mejoradas por codones de las proteínas fluorescentes. En algunas realizaciones, el marcador es o comprende una enzima, tal como una luciferasa, el gen lacZ de *E. coli*, fosfatasa alcalina, fosfatasa alcalina embrionaria secretada (SEAP), cloranfenicol acetil transferasa (CAT). Los genes indicadores emisores de luz de ejemplo incluyen luciferasa (luc), β-galactosidasa, cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), β-glucuronidasa (GUS) o sus variantes.

En algunas realizaciones, el marcador es un marcador de selección. En algunas realizaciones, el marcador de selección es o comprende un polipéptido que confiere resistencia a agentes o fármacos exógenos. En algunas realizaciones, el marcador de selección es un gen de resistencia a antibióticos. En algunas realizaciones, el marcador de selección es un gen de resistencia a antibióticos que confiere resistencia a antibióticos a una célula de mamífero. En algunas realizaciones, el marcador de selección es o comprende un gen de resistencia a puromicina, un gen de resistencia a higromicina, un gen de resistencia a blasticidina, un gen de resistencia a neomicina, un gen de resistencia a geneticina o un gen de resistencia a zeocina o a una forma modificada de los mismos.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que codifica el marcador está operativamente unido a un polinucleótido que codifica una secuencia enlazadora, tal como una secuencia enlazadora escindible, por ejemplo, T2A. Véase el documento WO2014031687. En algunas realizaciones, la introducción de una construcción que codifica el CAR y el marcador indirecto, separados por un interruptor ribosómico T2A, puede expresar dos proteínas a partir de la misma construcción, de manera que el marcador indirecto puede usarse como marcador para detectar células que expresan dicha construcción. En algunas realizaciones, el marcador indirecto y, opcionalmente, una secuencia enlazadora, puede ser cualquiera como se divulga en la publicación internacional N.º WO2014031687. Por ejemplo, el marcador puede ser un EGFR truncado (tEGFR) o PSMA, es decir, opcionalmente, unido a una secuencia enlazadora, tal como una secuencia enlazadora escindible 2A (por ejemplo, un enlazador escindible T2A, P2A, E2A o F2A, descrito en otra parte del presente documento). Un polipéptido de ejemplo para un marcador indirecto de EGFR truncado comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 634 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 634. En algunas realizaciones, el espaciador es o comprende una secuencia rica en glicina-serina u otro enlazador flexible tal como los enlazadores flexibles conocidos.

En algunas realizaciones, el marcador es una molécula, por ejemplo, una proteína de la superficie celular, que no se encuentra naturalmente en los linfocitos T o no se encuentra naturalmente en la superficie de los linfocitos T, o una porción de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula es una molécula no propia, por ejemplo, una proteína no propia, es decir, una que no es reconocida como "propia" por el sistema inmunitario del hospedador al que se transferirán las células adoptivamente.

En algunas realizaciones, el marcador no tiene ninguna función terapéutica y/o no produce ningún efecto que no sea el de ser utilizado como marcador para la ingeniería genética, por ejemplo, para seleccionar células modificadas por ingeniería satisfactoriamente. En otras realizaciones, el marcador puede ser una molécula terapéutica o una molécula que de otro modo ejerza algún efecto deseado, tal como un ligando para detectar una célula *in vivo*, tal como una molécula coestimuladora o de punto de control inmunitario para potenciar y/o atenuar las respuestas de las células después de la transferencia adoptiva y el acoplamiento con el ligando.

En algunos casos, los CAR se denominan CAR de primera, segunda y/o tercera generación. En algunas realizaciones, un CAR de primera generación es uno que proporciona únicamente una señal inducida por la cadena de CD3 tras la unión del antígeno o en respuesta a la misma; en algunas realizaciones, un CAR de segunda generación es uno que proporciona un señal de este tipo y una señal coestimuladora, tal como uno que incluye un dominio de señalización intracelular de un receptor coestimulador tal como CD28 o CD137; en algunas realizaciones, un CAR de tercera generación en algunas realizaciones es uno que incluye múltiples dominios coestimuladores de diferentes receptores

coestimuladores.

En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico incluye una porción extracelular que contiene el anticuerpo o fragmento descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico incluye una porción extracelular que contiene el anticuerpo o fragmento descrito en el presente documento y un dominio de señalización intracelular. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento incluye un scFv o un anticuerpo de dominio único que comprende únicamente la región V_H y el dominio de señalización intracelular contiene un ITAM. En algunas realizaciones, el dominio de señalización intracelular incluye un dominio de señalización de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ). En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico incluye un dominio transmembrana que une el dominio extracelular y el dominio de señalización intracelular. En algunas realizaciones, el dominio transmembrana contiene una porción transmembrana de CD28. El dominio extracelular y el transmembrana pueden unirse directa o indirectamente. En algunas realizaciones, el dominio extracelular y el transmembrana están unidos por un espaciador como se reivindica. En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico contiene un dominio intracelular de una molécula coestimuladora (por ejemplo, molécula coestimuladora de linfocitos T), tal como entre el dominio transmembrana y el dominio de señalización intracelular. En algunas realizaciones, la molécula coestimuladora de linfocitos T es CD28 o 4-1BB.

En algunas realizaciones, el dominio transmembrana del CAR es un dominio transmembrana de CD28 humano o una variante del mismo, por ejemplo, un dominio transmembrana de 27 aminoácidos de un CD28 humano (N.º de registro: P10747.1). En algunas realizaciones, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización coestimulador intracelular de CD28 humano o una variante funcional del mismo, tal como un dominio de 41 aminoácidos del mismo y/o un dominio de este tipo con una sustitución de LL a GG en las posiciones 186-187 de una proteína CD28 natural. En algunas realizaciones, el dominio intracelular comprende un dominio de señalización coestimulador intracelular de 4-1BB o una variante funcional del mismo, tal como un dominio citoplasmático de 42 aminoácidos de un 4-1BB humano (N,º de registro Q07011.1). En algunas realizaciones, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización estimulador zeta de CD3 humano o una variante funcional del mismo, tal como un dominio citoplasmático de 112 AA de la isoforma 3 de CD3ζ humano (número de referencia: P20963.2) o un dominio de señalización de CD3 zeta como se describe en la Patente de los EE. UU. N.º: 7.446.190.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el CAR incluye un anticuerpo o fragmento contra BCMA, tal como cualquiera de los anticuerpos contra BCMA humana, incluyendo sdAb y scFv, descritos en el presente documento, un espaciador tal como cualquiera de los espaciadores que contienen una bisagra de Ig como se reivindican, un dominio transmembrana de CD28, un dominio de señalización intracelular de CD28 y un dominio de señalización zeta de CD3. En algunas realizaciones, el CAR incluye el anticuerpo o fragmento contra BCMA, tal como cualquiera de los anticuerpos contra BCMA humana, incluyendo sdAb y scFv descritos en el presente documento, un espaciador tal como cualquiera de los espaciadores que contienen una bisagra de Ig como se reivindican, un dominio transmembrana de CD28, un dominio de señalización intracelular de 4-1BB y un dominio de señalización zeta de CD3. En algunas realizaciones, tales construcciones de CAR incluyen además un elemento de salto ribosómico T2A y/o una secuencia tEGFR, por ejemplo, en dirección 3' del CAR.

En determinadas realizaciones, los CAR multiespecíficos, pueden contener cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos, incluyendo, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos monocatenarios multiespecíficos, por ejemplo, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos, di-scFv en tándem y tri-scFv en tándem, tal como cualquiera descrito anteriormente en la Sección I.A.

B. Características de ejemplo

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en los CAR divulgados, tienen una o más características funcionales especificadas, tales como propiedades de unión, incluyendo el reconocimiento o la unión a epítopos particulares, tal como a epítopos que son similares o se solapan con los unidos específicamente por otros anticuerpos, tales como los anticuerpos de referencia, o epítopos que son diferentes de los unidos específicamente por otros anticuerpos, tales como los anticuerpos de referencia, la capacidad de competir por la unión con otros anticuerpos tales como anticuerpos de referencia y/o afinidades de unión particulares. En otras realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en los CAR divulgados, reconocen, tal como reconocen específicamente, o se unen, por ejemplo, se unen específicamente, a epítopos que son diferentes o que no se solapan con aquellos unidos específicamente por otros anticuerpos, tales como los anticuerpos de referencia. Por ejemplo, los epítopos unidos específicamente por los anticuerpos, en los CAR divulgados, son diferentes de aquellos unidos específicamente por otros anticuerpos, tales como los anticuerpos de referencia. En algunas realizaciones, los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos no compiten directamente, o compiten en menor grado, por la unión con otros anticuerpos tales como los anticuerpos de referencia.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos reconocen específicamente o se unen específicamente a la proteína BCMA. En cualquiera de los casos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, en los CAR divulgados, que reconoce específicamente BCMA, se une específicamente a BCMA. En algunas realizaciones divulgadas en el presente documento, la proteína BCMA se refiere a BCMA humana, una proteína BCMA de ratón o una proteína BCMA de primate no humano (por ejemplo, macaco cangrejero). En algunas realizaciones de

cualquiera de las realizaciones del presente documento, la proteína BCMA se refiere a la proteína BCMA humana. La observación de que un anticuerpo u otra molécula de unión se une a proteína BCMA o se une específicamente a proteína BCMA no significa necesariamente que se una a proteína BCMA de todas las especies. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las características de unión a proteína BCMA, tales como la capacidad de unirse específicamente a la misma y/o competir por la unión a la misma con un anticuerpo de referencia, y/o unirse con una afinidad particular o competir en un grado particular, en algunas realizaciones, se refieren a la capacidad con respecto a una proteína BCMA humana y el anticuerpo puede no tener esta característica con respecto a una proteína BCMA de otra especie, tal como ratón.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une a una proteína BCMA de mamífero, incluyendo las variantes de origen natural de BCMA, tales como determinadas variantes de corte y empalme o variantes alélicas.

En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen específicamente a proteína BCMA humana, tal como a un epítopo o región de proteína BCMA humana, tal como la proteína BCMA humana que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 367 (N.º de GenBank BAB60895.1) o la SEQ ID NO: 368 (N.º de NCBI NP_001183.2) o una variante alélica o variante de corte y empalme de la misma. En una realización, la proteína BCMA humana está codificada por una variante de la transcripción o es una isoforma que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 369. En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen a proteína BCMA de macaco cangrejero, tal como la proteína BCMA de macaco cangrejero expuesta en la SEQ ID NO: 371 (N.º de GenBank EHH60172.1). En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen a BCMA humana, pero no se unen o se unen en menor nivel o grado o afinidad a la proteína BCMA de macaco cangrejero, tal como la proteína BCMA de macaco cangrejero expuesta en la SEQ ID NO: 371 (N.º de GenBank EHH60172.1). En algunas realizaciones, los anticuerpos no se unen o se unen en menor nivel o grado o afinidad a la proteína BCMA de ratón, tal como la proteína BCMA de ratón expuesta en la SEQ ID NO: 370 (N.º de NCBI NP_035738.1). En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen a la proteína BCMA de ratón, tal como la proteína BCMA de ratón expuesta en la SEQ ID NO: 370 (N.º de NCBI NP_035738.1). En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen a la proteína BCMA de ratón, con menor afinidad que su unión a una proteína BCMA humana y/o a una proteína BCMA de macaco cangrejero. En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen a la proteína BCMA de ratón y/o a una proteína BCMA de macaco cangrejero con menor afinidad que su unión a una proteína BCMA humana. En algunas realizaciones, los anticuerpos se unen a la proteína BCMA de ratón y/o a una proteína BCMA de macaco cangrejero con una afinidad de unión similar en comparación con su unión a una proteína BCMA humana.

En algunas realizaciones, el CAR divulgado presenta una unión preferente al BCMA unido a membrana en comparación con el BCMA soluble. En algunas realizaciones, el CAR divulgado presenta mayor afinidad de unión para el BCMA unido a membrana en comparación con el BCMA soluble.

En una realización, el grado de unión de un CAR a una proteína no BCMA no relacionada, tal como una proteína BCMA no humana u otra proteína no BCMA, es inferior al 10 %, o aproximadamente, de la unión del CAR a la proteína BCMA humana o al BCMA humana unido a la membrana medida, por ejemplo, mediante radioinmunoensayo (RIA). En algunas realizaciones, entre los anticuerpos o dominios de unión a antígenos de los CAR divulgados, existen anticuerpos o dominios de unión a antígeno o CAR en los que la unión a la proteína BCMA de ratón es inferior o igual o aproximadamente el 10 % de la unión del anticuerpo a la proteína BCMA humana. En algunas realizaciones, entre los anticuerpos o dominios de unión a antígenos de los CAR divulgados, existen anticuerpos en los que la unión a la proteína BCMA de macaco cangrejero es inferior o igual o aproximadamente el 10 % de la unión del anticuerpo a la proteína BCMA humana. En algunas realizaciones, entre los anticuerpos o dominios de unión a antígenos de los CAR divulgados, existen anticuerpos en los que la unión a la proteína BCMA de macaco cangrejero y/o a una proteína BCMA de ratón es similar o aproximadamente igual a la unión del anticuerpo a la proteína BCMA humana. En algunas realizaciones, entre los anticuerpos o dominios de unión a antígenos de los CAR divulgados, existen anticuerpos o dominios de unión a antígeno o CAR en los que la unión a la proteína BCMA soluble es inferior o igual o aproximadamente el 10 % de la unión del anticuerpo a la proteína BCMA unida a membrana.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une específicamente a un anticuerpo de referencia y/o compite por su unión con él, y/o se une con una afinidad particular o compite en un grado particular, con una proteína BCMA, por ejemplo, BCMA humana, una proteína BCMA de ratón o una proteína BCMA de primate no humano (por ejemplo, macaco cangrejero).

En algunas realizaciones, los anticuerpos, en los CAR divulgados, son capaces de unirse a la proteína BCMA, tal como la proteína BCMA humana, con al menos cierta afinidad, medido por cualquiera de una serie de métodos conocidos. En algunas realizaciones, la afinidad está representada por una constante de disociación en equilibrio (K_D); en algunas realizaciones, la afinidad está representada por la CE_{50}.

Se conoce una variedad de ensayos para evaluar la afinidad de unión y/o determinar si una molécula de unión (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo) se une específicamente a un ligando en particular (por ejemplo, un antígeno, tal como una proteína BCMA). Está dentro del nivel de un experto en la materia determinar la afinidad de unión de una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, para un antígeno, por ejemplo, BCMA, tal como BCMA

humana o BCMA de macaco cangrejero o BCMA de ratón, tal como mediante el uso de cualquiera de los ensayos de unión bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, puede usarse un instrumento BIAcore® para determinar la cinética y las constantes de unión de un complejo entre dos proteínas (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo, y un antígeno, tal como una proteína BCMA), usando análisis por resonancia de plasmón superficial (SPR) (véase, por ejemplo, Scatchard *et al.*, Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660, 1949; Wilson, Science 295:2103, 2002; Wolff *et al.*, Cancer Res. 53:2560, 1993; y las Patentes de los EE. UU. N.º 5.283.173, 5.468.614, o equivalentes).

La SPR mide los cambios en la concentración de moléculas en la superficie de un sensor a medida que las moléculas se unen a la superficie o se disocian de ella. El cambio en la señal SPR es directamente proporcional al cambio en la concentración de masa cerca de la superficie, permitiendo de este modo la medición de la cinética de unión entre dos moléculas. La constante de disociación del complejo puede determinarse controlando los cambios del índice de refracción con respecto al tiempo a medida que el tampón pasa por el chip. Otros ensayos adecuados para medir la unión de una proteína a otra incluyen, por ejemplo, inmunoensayos tales como los ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) y los radioinmunoensayos (RIA), o la determinación de la unión mediante el seguimiento del cambio en las propiedades espectroscópicas u ópticas de las proteínas a través de fluorescencia, absorción UV, dicroísmo circular o resonancia magnética nuclear (RMN). Otros ensayos de ejemplo incluyen, pero sin limitación, transferencia Western, ELISA, ultracentrifugación analítica, espectroscopia, citometría de flujo, secuenciación y otros métodos para la detección de polinucleótidos expresados o de unión de proteínas.

En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de un CAR, se une a, tal como se une específicamente a la proteína BCMA o a un epítopo de la misma, con una afinidad o K_A (es decir,, una constante de asociación en equilibrio de una interacción de unión particular con unidades de 1/M; igual a la relación entre la velocidad de activación [k_{on} o k_a] y la velocidad de desactivación [k_{off} o k_d] de esta reacción de asociación, suponiendo interacción bimolecular) igual o superior a 10^5 M^{-1}. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento del mismo o dominio de unión a antígeno de un CAR presenta una afinidad de unión por el epítopo peptídico con una K_D (es decir,, una constante de disociación en equilibrio de una interacción de unión particular con unidades de M; igual a la relación entre la velocidad de desactivación [k_{off} o k_d] y la velocidad de activación [k_{on} o k_a] de esta reacción de asociación, suponiendo una interacción bimolecular) igual o inferior a 10^{-5} M. Por ejemplo, la constante de disociación en equilibrio K_D está en el intervalo de 10^{-5} M a 10^{-13} M, tal como de 10^{-7} M a 10^{-11} M, de 10^{-8} M a 10^{-10} M o de 10^{-9} M a 10^{-10} M. La velocidad de asociación (constante de velocidad de asociación; k_{on} o k_a; unidades de 1/Ms) y la velocidad de desactivación (constante de velocidad de disociación; k_{off} o k_d; unidades de 1/s) pueden determinarse usando cualquiera de los métodos de ensayo conocidos en la técnica, por ejemplo, resonancia de plasmón superficial (SPR).

En algunas realizaciones, la afinidad de unión (CE_{50}) y/o la constante de disociación del dominio de unión a antígeno de un CAR a aproximadamente la proteína BCMA, tal como la proteína BCMA humana, es de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 400 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 100 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 10 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 1 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 0,1 nM, es de o de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 400 nM, de o de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 100 nM, de o de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 10 nM, de o de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 1 nM, de o de aproximadamente 0,5 nM a aproximadamente 200 nM, de o de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 100 nM, de o de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 10 nM, de o de aproximadamente 2 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 10 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 10 nM a aproximadamente 100 nM, de o de aproximadamente 10 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 50 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 50 nM a aproximadamente 100 nM o de o de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 500 nM. En determinadas realizaciones, la afinidad de unión (CE_{50}) y/o la constante de disociación en equilibrio, K_D, del dominio de unión a antígeno a una proteína BCMA, tal como la proteína BCMA humana, es igual o inferior a, o aproximadamente, 400 nM, 300 nM, 200 nM, 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM, 11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM o 1 nM o menos. En algunas realizaciones, los dominios de unión a antígeno se unen a una proteína BCMA, tal como la proteína BCMA humana, con una afinidad de unión sub-nanomolar, por ejemplo, con una afinidad de unión inferior a aproximadamente 1 nM, tal como inferior a aproximadamente 0,9 nM, aproximadamente 0,8 nM, aproximadamente 0,7 nM, aproximadamente 0,6 nM, aproximadamente 0,5 nM, aproximadamente 0,4 nM, aproximadamente 0,3 nM, aproximadamente 0,2 nM o aproximadamente 0,1 nM o menos.

En algunas realizaciones, la afinidad de unión puede clasificarse como de alta afinidad o de baja afinidad. En algunos casos, el dominio de unión a antígeno de un CAR que presenta una unión de afinidad baja a moderada presenta un K_A de hasta 10^7 M^{-1}, hasta 10^6 M^{-1}, hasta 10^5 M^{-1}. En algunos casos, el dominio de unión a antígeno que presenta una unión de alta afinidad a un epítopo particular interactúa con dicho epítopo con una K_A de al menos 10^7 M^{-1}, al menos 10^8 M^{-1}, al menos 10^9 M^{-1}, al menos 10^{10} M^{-1}, al menos 10^{11} M^{-1}, al menos 10^{12} M^{-1} o al menos 10^{13} M^{-1}. En algunas realizaciones, la afinidad de unión (CE_{50}) y/o la constante de disociación en equilibrio, K_D, del dominio de unión a antígeno anti-BCMA del CAR, con una proteína BCMA, es de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente

1 µM, de 0,1 nM a 1 µM, de 1 nM a 1 µM, de 1 nM a 500 nM, de 1 nM a 100 nM, de 1 nM a 50 nM, de 1 nM a 10 nM, de 10 nM a 500 nM, de 10 nM a 100 nM, de 10 nM a 50 nM, de 50 nM a 500 nM, de 50 nM a 100 nM o de 100 nM a 500 nM. En determinadas realizaciones, la afinidad de unión (CE_{50}) y/o la constante de disociación de la constante de disociación en equilibrio, K_D, del dominio de unión a antígeno de un CAR, con una proteína BCMA, es igual o inferior a, o de aproximadamente, 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM, 11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM o 1 nM o menos. El grado de afinidad de un anticuerpo en particular puede compararse con la afinidad de un anticuerpo conocido, tal como un anticuerpo de referencia.

En algunas realizaciones, la afinidad de unión de un dominio de unión a antígeno anti-BCMA de un CAR, para diferentes antígenos, por ejemplo, proteínas BCMA de diferentes especies pueden compararse para determinar la reactividad cruzada entre especies. Por ejemplo, la reactividad cruzada entre especies puede clasificarse en reactividad cruzada alta o reactividad cruzada baja. En algunas realizaciones, la constante de disociación en equilibrio, K_D, para diferentes antígenos, por ejemplo, proteínas BCMA de diferentes especies tales como la humana, de macaco cangrejero o de ratón, puede compararse para determinar la reactividad cruzada entre especies. En algunas realizaciones, la reactividad cruzada entre especies de un dominio de unión a antígeno anti-BCMA de un CAR puede ser alta, por ejemplo, el dominio de unión a antígeno anti-BCMA se une a BCMA humana y a una variante de especie de BCMA en un grado similar, por ejemplo, la relación de K_D para BCMA humana y K_D para la variante de especie de BCMA es de 1, o aproximadamente. En algunas realizaciones, la reactividad cruzada entre especies de un dominio de unión a antígeno anti-BCMA de un CAR puede ser baja, por ejemplo, el dominio de unión a antígeno anti-BCMA tiene una alta afinidad por la BCMA humana pero una baja afinidad por una variante de especie de BCMA, o viceversa. Por ejemplo, la relación de K_D para la variante de especie de BCMA y K_D para la BCMA humana es superior a 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000 o más, y el dominio de unión a antígeno anti-BCMA tiene baja reactividad cruzada entre especies. El grado de reactividad cruzada entre especies puede compararse con la reactividad cruzada entre especies de un anticuerpo conocido, tal como un anticuerpo de referencia.

En algunas realizaciones, la afinidad de unión del dominio de unión a antígeno anti-BCMA de un CAR, para antígenos de diferente forma o tipo topológico, por ejemplo, proteína BCMA soluble en comparación con la afinidad de unión a una BCMA unida a membrana, para determinar la unión preferente o la afinidad relativa por una forma o tipo topológico particular. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los dominios de unión a antígeno anti-BCMA divulgados pueden presentar una unión preferente a BCMA unida a membrana en comparación con BCMA soluble y/o presentar una mayor afinidad de unión para BCMA unida a membrana en comparación con BCMA soluble. En algunas realizaciones, la constante de disociación en equilibrio, K_D, para diferentes formas o tipos topológicos de proteínas BCMA, puede compararse para determinar la unión preferente o la afinidad de unión relativa. En algunas realizaciones, la unión preferente o afinidad relativa a una BCMA unida a membrana en comparación con la BCMA soluble puede ser alta. Por ejemplo, en algunos casos, la relación entre la K_D para BCMA soluble y K_D para BCMA unida a membrana es superior a 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000 y/o más y el dominio de unión a antígeno se une preferentemente o tiene mayor afinidad de unión por BCMA unida a membrana. En algunos casos, la relación entre la K_A para BCMA unida a membrana y la K_A para BCMA soluble es superior a 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000 y/o más y el dominio de unión a antígeno se une preferentemente o tiene mayor afinidad de unión por BCMA unida a membrana. En algunos casos, el dominio de unión a antígeno de CAR se une a BCMA soluble y a BCMA unida a membrana en un grado similar, por ejemplo, la relación entre la K_D para BCMA soluble y la K_D para BCMA unida a membrana es de 1, o aproximadamente. En algunos casos, el dominio de unión a antígeno de CAR se une a BCMA soluble y a BCMA unida a membrana en un grado similar, por ejemplo, la relación entre la K_A para BCMA soluble y la K_A para BCMA unida a membrana es de 1, o aproximadamente. El grado de unión preferente o afinidad relativa por BCMA unida a membrana o BCMA soluble puede compararse con el de un anticuerpo conocido, tal como un anticuerpo de referencia.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en los CAR divulgados, se unen en grado similar a una proteína BCMA humana y a una proteína BCMA no humana o a otras proteínas no BCMA. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de un CAR se une a una proteína BCMA humana, tal como la proteína BCMA humana que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 367 (N.º de GenBank BAB60895.1) o la SEQ ID NO: 368 (N.º de NCBI NP_001 183.2) o una variante alélica o variante de corte y empalme de la misma, con una constante de disociación en equilibrio (K_D), y a una BCMA no humana, tal como una BCMA de macaco cangrejero, tal como la proteína BCMA de macaco cangrejero expuesta en la SEQ ID NO: 371 (N.º de GenBank EHH60172.1), con una K_D que es similar, o aproximadamente igual, o menos de 2 veces diferente, o menos de 5 veces diferente.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en los CAR divulgados, se unen en un grado similar a una proteína BCMA soluble y a una proteína BCMA unida a membrana, con una constante de disociación en equilibrio (K_D) que es similar, o aproximadamente igual, o menos de 2 veces diferente, o menos de 5 veces diferente.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, los anticuerpos, en los CAR divulgados, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, se unen a un BCMA humana con una K_D de aproximadamente o menos de, o aproximadamente, 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM,

11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM o 1 nM o menos, y se une a una BCMA de macaco cangrejero con una K_D de aproximadamente o menos de, o aproximadamente, 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM, 11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM o 1 nM o menos. En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos se unen a una proteína BCMA de ratón con una K_D de aproximadamente o menos de, o aproximadamente, 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM, 11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM o 1 nM o menos. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en los CAR divulgados, se unen a una BCMA humana, una BCMA de macaco cangrejero y una BCMA de ratón con alta afinidad. En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos se unen a una BCMA humana y a una BCMA de macaco cangrejero con una alta afinidad, y a una BCMA de ratón con una baja afinidad. En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos se unen a una BCMA humana y a BCMA de otras especies, o a otras variantes de la proteína BCMA, con alta afinidad.

En algunas realizaciones, la capacidad de unión total ($R_{máx}$), medida en condiciones particulares de resonancia de plasmón superficial (SPR), se usa para determinar la capacidad de unión del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a una proteína BCMA, tal como una proteína BCMA humana. Para el análisis por SPR, el "ligando" es la molécula diana inmovilizada en la superficie del sensor, por ejemplo, una proteína BCMA, y el "analito" es la molécula analizada, por ejemplo, anticuerpo, para determinar la unión al "ligando". Por ejemplo, el "analito" puede ser cualquiera de los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se une a una proteína BCMA. Para un par particular de ligando y analito en SPR, la $R_{máx}$ puede determinarse suponiendo un modelo de estequiometría de unión 1:1, para unas condiciones particular. La capacidad de unión ($R_{máx}$) se determinó mediante la siguiente fórmula: $R_{máx}$ (UR) = (peso molecular del analito)/(peso molecular del ligando) × nivel de ligando inmovilizado (UR). Por ejemplo, en condiciones de SPR particulares, la $R_{máx}$ de unión entre cualquiera de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos y una proteína BCMA, tal como una BCMA humana o una BCMA de macaco cangrejero, es de al menos de aproximadamente 50 unidades de resonancia (UR), tal como aproximadamente 25 UR, 20 UR, 15 UR, 10 UR, 5 UR o 1 UR.

En algunas realizaciones, los anticuerpos, tales como los anticuerpos humanos, en el CAR divulgado, se unen específicamente a un epítopo o región particular de la proteína BCMA, tal como generalmente un epítopo o región extracelular. La proteína BCMA es una proteína de membrana de tipo III de 184 aminoácidos que contiene un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio citoplásmico. En referencia a una secuencia de aminoácidos de BCMA humana expuesta en la SEQ ID NO: 367, el dominio extracelular se corresponde con los aminoácidos 1-54, los aminoácidos 55-77 se corresponden con el dominio transmembrana y los aminoácidos 78-184 se corresponden con el dominio citoplasmático.

Entre los CAR divulgados existen CAR que presentan una actividad o señalización dependiente de antígeno, es decir, la actividad de señalización que está mensurablemente ausente o en niveles de fondo en ausencia de antígeno, por ejemplo, BCMA. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los CAR divulgados no presentan, o presentan no más de un nivel de fondo o un nivel tolerable o bajo de, señalización tónica o actividad o señalización independiente de antígeno en ausencia de BCMA. En algunas realizaciones, las células que expresan CAR anti-BCMA divulgadas presentan actividad o función biológica, incluyendo actividad citotóxica, producción de citocinas y capacidad de proliferación.

En algunas realizaciones, la actividad biológica o funcional de un receptor quimérico, tal como la actividad citotóxica, puede medirse usando cualquiera de los métodos conocidos. La actividad puede evaluarse o determinarse *in vitro* o *in vivo*. En algunas realizaciones, la actividad puede evaluarse una vez administradas las células al sujeto (por ejemplo, ser humano). Los parámetros a evaluar incluyen la unión específica de un linfocito T natural o modificado por ingeniería u otra célula inmunitaria al antígeno, por ejemplo, *in vivo*, por ejemplo, por obtención de imágenes, o *ex vivo*, por ejemplo, mediante ELISA o citometría de flujo. En determinadas realizaciones, la capacidad de las células modificadas por ingeniería para destruir células diana puede medirse usando cualquier método adecuado conocido en la técnica, tal como ensayos de citotoxicidad descritos en, por ejemplo, Kochenderfer *et al.*, J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009) y Herman *et al.* J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004). En determinadas realizaciones, la actividad biológica de las células también se puede medir analizando la expresión y/o secreción de ciertas citocinas, tales como interleucina-2 (IL-2), interferón-gamma (IFNγ), interleucina-4 (IL-4), TNF-alfa (TNFα), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), interleucina-12 (IL-12), factor estimulador de las colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF), CD107a y/o TGF-beta (TGFβ). Los ensayos para medir las citocinas son bien conocidos en la técnica, e incluyen, pero sin limitación, ELISA, tinción intracelular de citocinas, matriz de perlas citométrica, RT-PCR, ELISPOT, citometría de flujo y bioensayos en los que se somete a ensayo la capacidad de respuesta de las células sensibles a la citocina en cuestión (por ejemplo, proliferación) en presencia de una muestra de ensayo. En algunas realizaciones, la actividad biológica se mide evaluando el resultado clínico, tal como la reducción del tamaño o la carga tumorales.

En algunas realizaciones, puede emplearse una estirpe celular indicadora para controlar la actividad independiente de antígeno y/o la señalización tónica a través de las células que expresan CAR anti-BCMA. En algunas ocasiones, una estirpe de linfocitos T, tal como una estirpe celular Jurkat, contiene una molécula indicadora, tal como una proteína fluorescente u otra molécula detectable, tal como una proteína roja fluorescente, expresada bajo el control de los elementos reguladores transcripcionales endógenos Nur77. En algunas realizaciones, la expresión del indicador Nur77

es intrínseca a la célula y depende de la señalización a través de un indicador recombinante que contiene una señal de activación primaria en un linfocito T, un dominio de señalización de un componente del receptor de linfocitos T (TCR) y/o un dominio de señalización que comprende un motivo de activación inmunorreceptor a base de tirosina (ITAM), tal como una cadena CD3ζ. Por lo general, la expresión de Nur77 no se ve afectada por otras vías de señalización tales como la señalización de citocinas o la señalización de receptores de tipo Toll (TLR), que pueden actuar de forma extrínseca a la célula y no depender de la señalización a través del receptor de antígeno quimérico. Por lo tanto, sólo las células que expresan el CAR anti-BCMA exógeno que contiene las regiones de señalización adecuadas son capaces de expresar Nur77 tras la estimulación (por ejemplo, unión del antígeno específico). En algunos casos, la expresión de Nur77 también puede mostrar una respuesta dependiente de la dosis a la cantidad de estimulación (es decir, antígeno).

En algunas realizaciones, los CAR anti-BCMA divulgados presentan un mejora de la expresión en la superficie de las células, tal como en comparación con un CAR alternativo que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica pero que está codificado por un sitio no de corte y empalme eliminado y/o una secuencia de nucleótidos con codones optimizados. En algunas realizaciones, se puede evaluar la expresión del receptor del antígeno quimérico en la superficie de la célula. Los enfoques para determinar la expresión del receptor de antígeno quimérico en la superficie de la célula pueden incluir el uso de anticuerpos específicos del receptor de antígeno quimérico (CAR) (por ejemplo, Brentjens *et al.*, Sci. Transl. Med. Marzo de 2013; 5(177): 177ra38), Proteína L (Zheng *et al.*, J. Transl. Med. febrero de 2012; 10:29), marcadores epitópicos y anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a un polipéptido de CAR (véase la Pub. de solicitud de patente internacional N.º WO2014190273). En algunas realizaciones, la expresión del receptor de antígeno quimérico en la superficie de la célula, por ejemplo, linfocito T primario, puede evaluarse, por ejemplo, mediante citometría de flujo, usando moléculas de unión que puedan unirse al receptor de antígeno quimérico o a una porción del mismo que puedan detectarse. En algunas realizaciones, las moléculas de unión utilizadas para detectar la expresión del receptor de antígeno quimérico un anticuerpo anti-idiotípico, por ejemplo, un anticuerpo anti-idiotípico agonista específico para un dominio de unión, por ejemplo, scFv, o una porción del mismo. En algunas ocasiones, la molécula de unión es o comprende un antígeno aislado o purificado, por ejemplo, un antígeno expresado recombinantemente.

C. Anticuerpos multiespecíficos

En determinadas realizaciones, los dominios de unión a BCMA son multiespecíficos. Los compañeros de unión multiespecíficos, por ejemplo, anticuerpos, tienen especificidades de unión para al menos dos sitios diferentes, que pueden estar en el mismo o en diferentes antígenos. En determinadas realizaciones, una de las especificidades de unión es para BCMA y la otra es para otro antígeno. En algunas realizaciones, moléculas de unión adicionales se unen y/o reconocen un tercer antígeno o más. En determinadas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos pueden unirse a dos epítopos diferentes de BCMA. En algunas realizaciones, los anticuerpos biespecíficos también se pueden usar para localizar agentes citotóxicos en las células que expresan BCMA. En algunas realizaciones, pueden prepararse anticuerpos biespecíficos como anticuerpos de longitud completa o como fragmentos de anticuerpo. En algunas realizaciones, entre los anticuerpos multiespecíficos están los anticuerpos monocatenarios multiespecíficos, por ejemplo, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos, di-scFv en tándem y tri-scFv en tándem. También se divulgan receptores quiméricos multiespecíficos, tales como los CAR multiespecíficos, que contienen los anticuerpos (por ejemplo, fragmentos de unión a antígenos). También se divulgan células multiespecíficas que contienen los anticuerpos o polipéptidos que los incluyen, tales como células que contienen una proteína de la superficie celular que incluye el anticuerpo anti-BCMA y una proteína adicional de la superficie celular, tal como un receptor quimérico adicional, que se une a un antígeno diferente o un epítopo diferente en BCMA.

Los antígenos adicionales de ejemplo incluyen antígenos específicos de linfocitos B, otros antígenos específicos de tumores, tales como antígenos expresados específicamente o asociados a la leucemia (por ejemplo, leucemia de linfocitos B), linfoma (por ejemplo, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, etc.) o un mieloma, por ejemplo, un mieloma múltiple (MM), una neoplasia maligna de células plasmáticas (por ejemplo, plasmocitoma). Por ejemplo, los antígenos incluyen aquellos que se expresan específicamente en la leucemia linfocítica crónica de linfocitos B (LLC) o se asocian a ella, un linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica aguda (LLA), linfoma de Burkitt (por ejemplo, linfoma de Burkitt endémico o linfoma de Burkitt esporádico), linfoma de células del manto (LCM), cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), leucemia mieloide (o mielógena) crónica (LMC), tricoleucemia (TL), linfoma linfocítico pequeño (LLP), linfoma de la zona marginal, linfoma de Hodgkin (LH), linfoma no Hodgkin (LNH), linfoma de células grandes anaplásicas (LCGA), linfoma folicular refractario, macroglobulinemia de Waldenstrom, linfoma folicular, linfoma de células pequeñas no escindidas, linfoma de tejido linfático asociado a mucosas (MALT), linfoma de la zona marginal, linfoma ganglionar de linfocitos B monocitoides, linfoma inmunoblástico, linfoma macrocítico, linfoma difuso de células mixtas, linfoma angiocéntrico pulmonar de linfocitos B, linfoma linfocítico pequeño, linfoma mediastínico primario de linfocitos B, linfoma linfoplasmacítico (LLP), neuroblastoma, carcinoma de células renales, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de células escamosas epiteliales, melanoma, mieloma tal como mieloma múltiple (por ejemplo, mieloma múltiple no secretor, mieloma múltiple latente), cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón microcítico), cáncer de páncreas, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovario, cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepático, hepatoma, etc.), cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de testículo, cáncer de tiroides, cáncer de útero, cáncer de bazo (por ejemplo, linfoma esplénico), cáncer suprarrenal y/o cáncer de cabeza

y cuello, y antígenos expresados en linfocitos T.

En algunas realizaciones, entre los segundos antígenos o antígenos adicionales para estrategias de multidireccionamiento se incluyen aquellos en los que al menos uno de los antígenos es un antígeno tumoral universal, o un miembro de la familia del mismo. En algunas realizaciones, el segundo antígeno o antígeno adicional es un antígeno expresado en un tumor. En algunas realizaciones, las moléculas de unión a BCMA divulgadas en el presente documento se dirigen a un antígeno del mismo tipo de tumor como el segundo antígeno o antígeno adicional. En algunas realizaciones, el segundo antígeno o antígeno adicional puede ser también un antígeno tumoral universal o puede ser un antígeno tumoral específico de un tipo de tumor.

Los segundos antígenos o antígenos adicionales incluyen CD4, CD5, CD8, CD14, CD15, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD33, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD46, CD52, CD54, CD74, CD80, CD126, CD138, B7, MUC-1, Ia, HM1.24, HLA-DR, tenascina, un factor de angiogénesis, VEGF, PIGF, Fibronectina ED-B, un oncogén, un producto oncogénico, CD66a-d, antígenos de necrosis, Ii, IL-2, T101, TAC, IL-6, ROR1, TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), tEGFR, Her2, L1-CAM, mesotelina, CEA, antígeno de superficie de la hepatitis B, receptor anti-folato, CD24, CD30, CD44, EGFR, EGP-2, EGP-4, EPHa2, ErbB2, ErbB3, ErbB4, dímeros erbB, EGFR vIII, FBP, FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, receptor acoplado a proteína G clase C grupo 5 miembro D (GPRC5D), HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, kdr, cadena ligera kappa, Lewis Y, molécula L1 de adhesión celular (L1-CAM), antígeno asociado a melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, antígeno preferentemente expresado del melanoma (PRAME), survivina, EGP2, EGP40, TAG72, B7-H6, receptor a2 de IL-13 (IL-13Ra2), CA9, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor alfa de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrina, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, AchR fetal, ligandos de NKG2D, antígeno dual, un antígeno asociado a un marcador universal, un antígeno de cáncer de testículo, MUC1, MUC16, NY-ESO-1, MART-1, gp100, antígeno oncofetal, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno específico de próstata, PSMA, Her2/neu, receptor de estrógenos, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, tumor de Wilms 1 (WT-1), una ciclina, ciclina A2, CCL-1, hTERT, MDM2, CYP1B, WT1, livina, AFP, p53, ciclina (D1), CS-1, BAFF-R, TACI, CD56, TIM-3, CD123, molécula L1 de adhesión celular, MAGE-A1, MAGE A3, una ciclina, tal como ciclina A1 (CCNA1) y/o un antígeno específico de patógeno, moléculas biotiniladas, moléculas expresadas por el VIH, VHC, VHB y/u otros patógenos, y/o, en algunas realizaciones, neoepítopos o neoantígenos de los mismos. En algunas realizaciones, el antígeno se asociado a o es un marcador universal.

En algunas realizaciones, el antígeno, por ejemplo, el segundo antígeno o antígeno adicional, tal como el antígeno específico de la enfermedad y/o el antígeno relacionado, se expresa en el mieloma múltiple, tal como el miembro D del grupo 5 de la clase C de receptores acoplados a proteína G (GPRC5D), CD38 (ADP ribosa hidrolasa cíclica), CD138 (sindecán-1), sindecán, SYN-1), CS-1 (CS1, subconjunto 1 de CD2, CRACC, SLAMF7, CD319 y 19A24), BAFF-R, TACI y/o FcRH5. Otros antígenos de ejemplo de mieloma múltiple incluyen CD56, TIM-3, CD33, CD123, CD44, CD20, CD40, CD74, CD200, EGFR, microglobulina β2, HM1.24, IGF-1R, IL-6R, TRAIL-R1, y el receptor de activina tipo IIA (ActRIIA). Véase Benson y Byrd, J. Clin. Oncol. (2012) 30(16): 2013-15; Tao y Anderson, Bone Marrow Research (2011):924058; Chu *et al.*, Leukemia (2013) 28(4):917-27; Garfall *et al.*, Discov Med. (2014) 17(91):37-46. En algunas realizaciones, los antígenos incluyen los presentes en los tumores linfoides, mieloma, linfoma asociado al SIDA, y/o linfoproliferaciones post-trasplante, tales como CD38. Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígenos dirigidos contra dichos antígenos son conocidos e incluyen, por ejemplo, aquellos descritos en las Patentes de los EE. UU. N.º 8.153.765; 8.603477, 8.008.450; la Pub. de los EE. UU. N.º US20120189622 o US20100260748; y/o la publicación internacional PCT números WO2006099875, WO2009080829 o WO2012092612 o WO2014210064. En algunas realizaciones, dichos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, scFv) están contenidos en CAR multiespecíficos, y/o células multiespecíficas.

II. MÉTODOS DE OPTIMIZACIÓN Y PRODUCCIÓN DE POLINUCLEÓTIDOS, POR EJEMPLO, POLINUCLEÓTIDOS QUE CODIFICAN CAR DE BCMA, Y POLINUCLEÓTIDOS OPTIMIZADOS

En el presente documento se describen métodos para optimizar polinucleótidos para su expresión y/o uso terapéutico, y polinucleótidos optimizados, por ejemplo, de acuerdo con los métodos. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos u optimizaciones descritos reducen la heterogeneidad y/o aumentan la homogeneidad del ARN transcrito, tal como el ARN mensajero (ARNm), por ejemplo, cuando el polinucleótido se expresa en una célula, tal como en un tipo particular de célula, tales como en un tipo de célula de mamífero, por ejemplo, humano, tal como un linfocito T humano tal como un linfocito T humano primario o una estirpe de linfocitos T. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos para optimizar polinucleótidos incluyen métodos para identificar y eliminar o alterar la secuencia de uno o más sitios de corte y empalme crípticos, tales como uno o ambos de un sitio de corte y empalme donantes o un sitio de corte y empalme aceptor. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos pueden incluir adicionalmente o además la optimización de codones. En algunos aspectos descritos en el presente documento, la optimización de codones puede realizarse antes y/o después de los métodos de reducción de la heterogeneidad del ARN transcrito (por ejemplo, ARNm), tal como mediante la retirada o eliminación de los sitios de corte y empalme previstos. En algunos aspectos descritos en el presente documento, la optimización de codones se integra en una cualquiera o más etapas del método de reducción de la heterogeneidad de los ARN transcritos. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos de reducción de la heterogeneidad, tales como la retirada o eliminación de sitios de corte y empalme previstos, pueden realizarse después de la optimización de

codones. En algunos casos descritos en el presente documento, se describen métodos en los que un polinucleótido codifica un transgén, incluyendo un polinucleótido que codifica cualquiera de los polipéptidos de CAR anti-BCMA divulgados, puede optimizarse para su expresión y/o para su uso terapéutico. En algunas realizaciones, los polinucleótidos se modifican para optimizar el uso de codones. En algunas realizaciones, se optimizan los codones de los polinucleótidos para su expresión en una célula humana tal como un linfocito T humano primario. En algunas realizaciones, los polinucleótidos, tales como aquellos que codifican cualquiera de los receptores de antígenos quiméricos divulgados en el presente documento, se modifican o se han modificados para reducir la heterogeneidad o contienen uno o más secuencias de ácido nucleico observadas en el presente documento (tal como mediante los métodos de optimización) para dar como resultado características mejoradas de los CAR en comparación con aquellos que contienen secuencias distintas, de referencia, o que no se han optimizado. Entre dichas características se incluyen mejoras en la heterogeneidad del ARN, tales como las resultantes de la presencia de uno o más sitios de corte y empalme, tales como uno o más sitios de corte y empalme crípticos, y/o la expresión mejorada y/o la expresión en superficie de la proteína codificada, tal como los niveles aumentados, la uniformidad o la consistencia de expresión entre células o diferentes composiciones celulares terapéuticas modificadas por ingeniería para expresar los polipéptidos. En algunas realizaciones, los polinucleótidos pueden tener codones optimizados para su expresión en células humanas.

Las secuencias de ácido nucleico genómico generalmente, en la naturaleza, en una célula de mamífero, experimentan un procesamiento de forma cotranscripcional o inmediatamente después de la transcripción, en donde un ácido ribonucleico mensajero precursor naciente (pre-ARNm), transcrito a partir de una secuencia genómica de ácido desoxirribonucleico (ADN), se edita en algunos casos por medio de corte y empalme, para eliminar intrones, seguido de ligadura de los exones en células eucariotas. Se conocen secuencias de consenso para los sitios de corte y empalme, pero en algunas realizaciones, la información de nucleótidos específica que define un sitio de corte y empalme puede ser compleja y no resultar evidente basándose en los métodos disponibles. Los sitios de corte y empalme crípticos son sitios de corte y empalme que no se predicen basándose en las secuencias consenso convencionales y se activan de forma variable. Por ende, el corte y empalme variable del pre-ARNm en sitios de corte y empalme crípticos conduce a la heterogeneidad de los productos de ARNm transcritos después de su expresión en células eucariotas.

Los polinucleótidos generados para la expresión de transgenes se construyen normalmente a partir de secuencias de ácidos nucleicos, tales como ADN complementario (ADNc), o porciones de las mismas, que no contienen intrones. Por lo tanto, no se espera que se produzca el corte y empalme de dichas secuencias. Sin embargo, la presencia de sitios de corte y empalme crípticos dentro de la secuencia de ADNc puede conducir a reacciones de corte y empalme no deseadas o no intencionadas y a heterogeneidad en el ARNm transcrito. Dicha heterogeneidad da como resultado la traducción de productos proteicos no deseados, tales como productos proteicos truncados con secuencias variables de aminoácidos que presentan una expresión y/o una actividad modificadas.

También se divulgan métodos y enfoques para determinar la heterogeneidad de un ácido nucleico transcrito tal como el que codifica o contiene un transgén o codifica una proteína recombinante. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos incluyen determinar la heterogeneidad de una secuencia transcrita de ácido nucleico que incluye la totalidad o una porción de la región no traducida en 5' (UTR 5'), y/o la totalidad o una porción de la región no traducida en 3' (UTR 3'), del ácido nucleico transcrito. En el presente documento también se describen métodos de identificación de la presencia de sitios de corte y empalme, tales como sitios de corte y empalme crípticos, basados en la heterogeneidad del ácido nucleico transcrito. También se describen métodos de identificación de un transgén candidato para la eliminación de sitios de corte y empalme, tales como sitios de corte y empalme crípticos, usando los métodos divulgados para determinar la heterogeneidad del ácido nucleico transcrito del transgén. También se describen métodos de reducción de la heterogeneidad de un transcrito transgénico expresado.

En el presente documento también se describen métodos de identificación de un transgén o proteína recombinante o ácido nucleico candidato para la eliminación o modificación de uno o más sitios de corte y empalme, tales como sitios de corte y empalme crípticos, tales como basados la heterogeneidad determinada del ácido nucleico transcrito, por ejemplo, del transgén.

También se describen métodos y enfoques para reducir la heterogeneidad de un ácido nucleico transcrito (por ejemplo, transcrito) de un transgén (por ejemplo, un transcrito de transgén expresado) u otro ácido nucleico. Dichos métodos y enfoques pueden incluir la identificación de un transgén candidato para la eliminación de sitios de corte y empalme (tales como sitios de corte y empalme crípticos) de acuerdo con los métodos descritos y la identificación de uno o más posibles sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme dentro del transgén. En los casos descritos en el presente documento de los métodos descritos, los sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme pueden estar en las regiones traducidas y/o no traducidas del ácido nucleico transcrito (por ejemplo, transcrito).

En algunas realizaciones, la eliminación de sitios de corte y empalme, tales como sitios de corte y empalme crípticos, puede mejorar u optimizar la expresión de un producto transgénico, tal como un polipéptido traducido a partir del transgén, tal como un polipéptido de CAR anti-BCMA. El corte y empalme en sitios de corte y empalme crípticos de un transgén codificado, tal como una molécula de CAR contra BMCA codificada, puede conducir a una expresión de proteínas reducida, por ejemplo, la expresión en superficies celulares, y/o a una función reducida, por ejemplo, una

señalización intracelular reducida. En el presente documento se divulgan polinucleótidos, que codifican proteínas CAR anti-BMCA que se han optimizado para reducir o eliminar sitios de corte y empalme crípticos. En el presente documento también se divulgan polinucleótidos que codifican proteínas CAR anti-BCMA que se han optimizado para la expresión de codones y/o en los que hay presente una o más secuencias, tales como una identificada mediante los métodos u observaciones del presente documento con respecto a los sitios de corte y empalme, y/o en los que no hay presente un sitio de corte y empalme identificado, tal como cualquiera de los sitios de corte y empalme identificados del presente documento. Entre los polinucleótidos divulgados se encuentran aquellos que presentan por debajo de un cierto grado de heterogeneidad del ARN o formas de corte y empalme cuando se expresan en determinadas condiciones y/o se introducen en un tipo celular específico, tal como un linfocito T humano, tal como un linfocito T humano primario, y células y composiciones y artículos de fabricación que contienen dichos polipéptidos y/o que presentan dichas propiedades.

En algunas realizaciones, la reducción de la heterogeneidad del ARN o la eliminación de un posible sitio de corte y empalme comprende modificar un polinucleótido. En algunas realizaciones, la modificación incluye una o más modificaciones de nucleótidos, tales como un reemplazo o sustitución, en comparación con un polinucleótido de referencia tal como un polinucleótido sin modificar que codifica el mismo polipéptido. En algunas realizaciones, el polinucleótido de referencia es uno en el que el ARN transcrito (por ejemplo, ARNm), cuando se expresa en una célula, presenta un porcentaje superior o superior a aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más de heterogeneidad del ARN. En algunas realizaciones, los métodos divulgados pueden conducir a polinucleótidos en los que la heterogeneidad del ARN transcrito se reduce en más o más de aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más. En algunas realizaciones, los métodos divulgados producen polinucleótidos en los que la homogeneidad del ARN transcrito es de al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % o superior.

A. Métodos de medición y reducción de la heterogeneidad del ARN

En el presente documento se divulgan métodos, enfoques y estrategias para medir, evaluar y/o reducir la heterogeneidad del ARN de un ácido nucleico, tal como de un ARN transcrito, por ejemplo, cuando se expresan en un tipo celular o contexto particular, así como polinucleótidos que presentan reducción de dicha heterogeneidad y/o riesgo de la misma, en comparación con un polinucleótido de referencia. En algunas ocasiones, un polinucleótido de referencia puede evaluarse para determinar la heterogeneidad del ARN, tal como mediante métodos como se describen en esta Sección. En algunas realizaciones, los enfoques divulgados implican identificar la heterogeneidad del ARN (por ejemplo, ARNm) o la probabilidad de la misma, tal como en una célula o contexto particular, tal como debido a sitios de corte y empalme crípticos. En algunas realizaciones, dicha heterogeneidad se identifica amplificando los transcritos de ARN usando un primer cebador específico de la región no traducida en 5' (UTR 5'), correspondiente a una porción de un elemento ubicado en dirección 5' del transgén en el ARN transcrito, tal como un promotor, y un segundo cebador específico de una región no traducida en 3' (UTR 3'), ubicado en dirección 3' del transgén expresado en la secuencia de ARN transcrita o específico de una secuencia dentro del transgén. En algunas realizaciones, los métodos implican la amplificación de un ácido nucleico transcrito usando al menos un par de cebadores 5' y 3', en donde al menos un par comprende un cebador en 5' que es complementario a una secuencia de ácido nucleico dentro de la región no traducida en 5' (UTR 5') del ácido nucleico transcrito y un cebador en 3' que es complementario a una secuencia de ácido nucleico dentro de la región no traducida en 3' (UTR 3') del ácido nucleico transcrito para generar uno o más productos amplificados. En algunas realizaciones, los métodos incluyen detectar los productos amplificados, en donde la presencia de dos o más productos amplificados a partir de al menos un par de cebadores en 5' y 3' indica heterogeneidad en los productos amplificados. En algunas realizaciones, la diferencia detectada en los transcritos son diferentes longitudes del transcrito amplificado. En algunas realizaciones, las diferencias detectadas en los transcritos son diferencias en los perfiles cromatográficos. A continuación se describen métodos de ejemplo para identificar un polinucleótido con heterogeneidad del ARN. En algunas realizaciones, los métodos comprenden evaluar la heterogeneidad del ARN para determinar la necesidad de modificación para reducir la heterogeneidad. En algunas realizaciones, se seleccionan polinucleótidos que presentan una heterogeneidad del ARN superior o superior a aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más para la modificación de nucleótidos con el fin de eliminar uno o más sitios de corte y empalme, tales como uno o más sitios de corte y empalme crípticos.

1. Medición de la heterogeneidad del ARN

La heterogeneidad del ARN puede determinarse mediante cualquiera de una serie de métodos divulgados en el presente documento o descritos o conocidos. En algunas realizaciones, la heterogeneidad del ARN de un ácido nucleico transcrito se determina amplificando el ácido nucleico transcrito, tal como mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) seguida de detección de una o más diferencias, tales como las diferencias de tamaño, en uno o más productos amplificados. En algunas realizaciones, la heterogeneidad del ARN se determina basándose en el número de productos amplificados de distinto tamaño, o la proporción de diiversos productos amplificados de distinto tamaño. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la heterogeneidad del ARN se cuantifica determinando el número, la cantidad o la proporción de producto amplificado de tamaño diferente en comparación con el número o cantidad de productos amplificados totales. En algunas realizaciones, se determina que la totalidad o sustancialmente la totalidad de un transcrito particular tiene el mismo tamaño, y en este caso, la heterogeneidad del ARN es baja. En algunas realizaciones, hay presente una diversidad de transcritos de diferente tamaño, o una gran proporción de un transcrito particular es de un tamaño diferente en comparación con el tamaño

previsto del producto amplificado sin eventos de corte y empalme crípticos o no deseados. En algunas realizaciones, la heterogeneidad del ARN puede calcularse dividiendo el número total o la cantidad de todos los productos amplificados que tienen un tamaño diferente en comparación con el tamaño previsto del producto amplificado por el número total o la cantidad de todos los productos amplificados. En algunas realizaciones, el tamaño previsto del transcrito o producto amplificado es de un ARN que no contiene o no se prevé que contenga un sitio de corte y empalme críptico. En algunas realizaciones, el tamaño previsto del transcrito o producto amplificado tiene en cuenta uno o más sitios de corte y empalme deseados o colocados intencionadamente.

En algunas realizaciones, se recoge ARN, tal como ARN total o ARN poliadenilado citoplasmático, de las células, que expresan el transgén que ha de optimizarse, y se amplifica mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) usando un cebador específico de la región no traducida en 5' (UTR 5'), en algunos casos correspondiente a una porción de la secuencia promotora en el vector de expresión, ubicado en dirección 5' del transgén en el ARN transcrito, y un cebador específico de la región no traducida en 3' (UTR 3'), ubicado en dirección 3' del transgén expresado en la secuencia de ARN transcrito o un cebador específico para una secuencia dentro del transgén. En realizaciones particulares, para amplificar el transgén se emplea al menos un cebador complementario a una secuencia en la región no traducida en 5' (UTR) y al menos un cebador complementario a una secuencia en la región no traducida en 3' (UTR). Una representación de ejemplo de la amplificación de un transcrito y el producto resultante usando un cebador directo específico de la UTR 5' y un cebador específico de una secuencia de nucleótidos en la UTR 3' y un producto amplificado previsto, donde no se han producido eventos de corte y empalme, se proporciona en la **FIG. 21A.** Una representación de ejemplo de productos amplificados múltiples (es decir, heterogeneidad) de ejemplo resultantes de la amplificación de un transcrito que tiene una UTR 5', con una secuencia promotora transcrita que contiene un sitio donante de corte y empalme conocido (P-SD) y un sitio aceptor de corte y empalme conocido (P-SD), un transgén transcrito que contiene un sitio donante de corte y empalme desconocido (críptico) (T-SD) y dos sitios aceptores de corte y empalme desconocidos (crípticos) (T-SA) y una UTR 3', usando cebadores específicos para las regiones de la UTR 5' y UTR 3', se muestra en la **FIG. 21B.**

Los cebadores específicos para la región no traducida 5' (UTR) incluyen cebadores dirigidos a secuencias dentro del promotor del transgén. En algunos ejemplos, un cebador específico de un promotor EF1a/HTLV. Un cebador directo de ejemplo, específico de un promotor EF1a-HTLV se expone en la SEQ ID NO: 763.

Los cebadores específicos para la región no traducida en 3' (UTR) incluyen cebadores dirigidos a elementos reguladores postranscripcionales 3' ubicados en dirección 3' del transgén. Los elementos reguladores postranscripcionales en 3' de ejemplo incluyen el elemento regulador postranscripcional (WPRE) del virus de la hepatitis de la marmota (WHP), expuesto en la SEQ ID NO: 636. Un cebador directo de ejemplo, específico de un WPRE se expone en la SEQ ID NO: 764.

En algunas realizaciones, pueden usarse múltiples pares de cebadores para amplificar el transgén, tal como para transgenes largos. En algunas realizaciones, pueden usarse pares secuenciales o anidados de cebadores directos e inversos, para crear una ventana deslizante de productos amplificados, con el fin de obtener una cobertura completa y solapada de la secuencia. Normalmente, los cebadores se diseñan para amplificar una longitud de transgén que es de aproximadamente 1,5-6 kb, 2-6 kb o 3-6 kb. En la **FIG. 21C.**se proporciona una representación de ejemplo de la amplificación de un transcrito usando pares de cebadores anidados.

Después, la secuencia de ácido nucleico amplificada se analiza para determinar la heterogeneidad en términos de longitudes de transcripción amplificadas. En algunos ejemplos, la heterogeneidad viene determinada por el número y la intensidad de las bandas para la secuencia expresada. En algunas realizaciones, las secuencias de ARN que tienen eventos de corte y empalme tras la expresión generan múltiples bandas con diferentes movilidades. En algunas realizaciones, se detecta una banda principal a la movilidad prevista para una secuencia que no tiene ningún evento de corte y empalme imprevisto, y 1 o más bandas adicionales de intensidades y movilidades variables indican la aparición de uno o más eventos de corte y empalme crípticos dentro de la secuencia transgénica.

El experto en la materia puede resolver el ARN, tal como ARN mensajero, y analizar la heterogeneidad del mismo mediante varios métodos. Configuraciones no limitantes, los métodos de ejemplo incluyen electroforesis en gel de agarosa, electroforesis capilar basada en chip, centrifugación analítica, fraccionamiento de flujo de campo y cromatografía, tal como cromatografía de exclusión por tamaño o cromatografía de líquidos.

Una o más etapas de las técnicas anteriores pueden realizarse en condiciones desnaturalizantes, condiciones parcialmente desnaturalizantes o condiciones no desnaturalizantes. Las condiciones de desnaturalización pueden incluir condiciones que provocan la desnaturalización del transcrito de ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) debido a la temperatura, agentes caotrópicos (incluyendo sales), agentes orgánicos, entre otros mecanismos de desnaturalización. En condiciones de desnaturalización térmica, puede aplicarse una temperatura elevada. La temperatura elevada puede ser suficiente para desnaturalizar los enlaces de hidrógeno intramoleculares, para provocar un cambio o una pérdida de la estructura secundaria o terciaria, etc. Por ejemplo, la temperatura o las condiciones de desnaturalización térmica pueden incluir una temperatura de 25 grados centígrados a 95 grados centígrados, de 35 a 85 grados Celsius, de 55 a 75 grados Celsius, o de otro intervalo dentro de esos intervalos. De manera similar, pueden usarse temperaturas más altas o más bajas, según sea adecuado, para provocar el nivel

deseado de desnaturalización. Las condiciones de temperatura o de desnaturalización térmica también pueden depender de la identidad del transcrito de ácido nucleico, de manera que se usen diferentes temperaturas para diferentes transcritos de ácido nucleico o tipos de transcritos de ácido nucleico. Las condiciones de desnaturalización también pueden incluir usar agentes caotrópicos, tales como perclorato de litio y otras sales de perclorato, cloruro de guanidinio y otras sales de guanidinio, urea, butanol, etanol, acetato de litio, cloruro de magnesio, fenol, propanol, dodecilsulfato de sodio, tiourea u otros. Las condiciones de desnaturalización pueden incluir además agentes desnaturalizantes orgánicos, tales como sulfóxido de dimetilo (DMSO), acetonitrilo y glioxal. Además, las condiciones de desnaturalización pueden incluir una combinación de dos o más de estos tipos de condiciones de desnaturalización. Una cualquiera o más de las etapas de las técnicas de determinación de la heterogeneidad del ARN pueden realizarse a temperatura elevada o a temperatura ambiente, con o sin agentes caotrópicos u orgánicos.

a) Electroforesis en gel

En algunas realizaciones, la topología de los transcritos de ARN y su tamaño aparente (hidrodinámico) pueden analizarse mediante electroforesis en gel, tal como electroforesis en gel de agarosa. En algunos ejemplos, el transcrito de ARN puede resolverse en un gel de agarosa del 0,05 % al 2 %, tal como un gel de agarosa al 1,2 %, y puede visualizarse mediante tinción o usando sondas específicas para una secuencia particular. En algunas realizaciones, Los transcritos de ARN pueden evaluarse directamente mediante electroforesis en gel, o después de la amplificación, tal como mediante métodos de amplificación cuantitativa. Las tinciones de ácido nucleico para visualizar ácido nucleico en gel de agarosa son bien conocidas. Las tinciones de ejemplo incluyen Tinción de Ácido Nucleico BlueView™ (Millipore Sigma), Tinción de Ácido Nucleico Oro SYBR® (ThermoFisher), Tinción de Ácido Nucleico Verde SYBR® (Millipore Sigma), SYBR® Verde II (ThermoFisher), tinción de ácido nucleico PicoGreen® (Invitrogen) y bromuro de etidio: 0,5 µg/ml preparado en agua destilada, o incorporado en el gel. En algunos ejemplos, el ácido nucleico se tiñe usando la unión Quant-iT™ PicoGreen ® seguida de detección por fluorescencia y cuantificación de los productos amplificados. El método de gel de agarosa proporciona una medida más cuantitativa, pero menos resolutiva, de la distribución de tamaño. En algunas realizaciones, los fragmentos de ácido nucleico, resueltos mediante electroforesis en gel de agarosa pueden visualizarse mediante transferencia Northern para el ARN o transferencia Southern para los productos amplificados de la reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa (RT-PCR).

b) Electroforesis capilar basada en chip

Puede usarse electroforesis capilar basada en chip (por ejemplo, con el AGILENT 2100 BIOANALYZER™), un método rápido y rutinario para controlar la integridad del transcrito de ARN y su distribución de tamaño. La separación se basa en el tamaño hidrodinámico y la carga, y se ve afectada por la longitud de los nucleótidos y la estructura plegada del transcrito de ARN. En una realización, el método incluye suministrar la muestra en un canal de un chip con un medio electrolítico y aplicar un campo eléctrico al chip que provoca que el transcrito de ARN y las impurezas migren a través del canal. El transcrito de ARN tiene una movilidad electroforética diferente a la de las impurezas, de manera que el transcrito de ARN migra a través del canal a una velocidad diferente a la velocidad a la que migran las impurezas a través del canal. La movilidad electroforética del transcrito de ARN es proporcional a la carga iónica del transcrito de ARN e inversamente proporcional a las fuerzas de fricción en el medio electrolítico. El método también comprende recoger del chip la muestra que comprende el transcrito de ARN y una o más porciones separadas de la muestra que comprende las impurezas. Además, el método incluye caracterizar un aspecto de al menos una de entre la porción de la muestra que comprende el transcrito de ARN y la una o más porciones separadas de la muestra que comprende las impurezas. La caracterización puede incluir, por ejemplo, cuantificar variantes de carga.

c) Ultracentrifugación analítica (AUC)

La ultracentrifugación analítica (AUC) es un método en fase de solución para medir la distribución de peso molecular, sin los posibles artefactos que podría introducir la interacción de la matriz (resina o gel) en la SEC, agarosa u otros métodos. Se usan tanto la AUC de equilibrio como la ultracentrifugación por sedimentación, y esta última proporciona coeficientes de sedimentación que se refieren tanto al tamaño como a la forma del transcrito de ARN. Para el análisis del transcrito de ARN se usa una ultracentrífuga analítica BECKMAN™ equipada con una óptica UV/visible de barrido.

d) Fraccionamiento por flujo de campo (FFF)

Otro método en fase de solución para evaluar la distribución hidrodinámica de tamaño es el fraccionamiento por flujo de campo (FFF). El FFF es una técnica de separación en la que se aplica un campo a una suspensión o solución fluida bombeada a través de un canal largo y estrecho, perpendicular a la dirección del flujo, para provocar la separación de los polinucleótidos (transcritos de ARN) presentes en el fluido, bajo la fuerza ejercida por el campo. El campo puede ser un flujo asimétrico a través de una membrana semipermeable, gravitatorio, centrifugo, de gradiente térmico, eléctrico, magnético, etc.

e) Cromatografía

También puede usarse la cromatografía para detectar la heterogeneidad de las longitudes de los transcritos de ARN. En el documento WO2014144711 se describen métodos de cromatografía de exclusión por tamaño y cromatografía

de líquidos para determinar la heterogeneidad del ARNm.

B. Métodos de optimización de polinucleótidos, por ejemplo, polinucleótidos que codifican CAR de BCMA

En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos descritos incluyen la optimización y/o modificación del polinucleótido, por ejemplo, para reducir la heterogeneidad del ARN y/o retirar o eliminar los sitios de corte y empalme crípticos o no deseados. En algunas ocasiones, se describen métodos de reducción de la heterogeneidad de un transcrito transgénico expresado que implican la identificación de un transgén candidato para la eliminación de sitios de corte y empalme, tal como mediante los métodos descritos anteriormente en la Sección I.A.; identificar uno o más posibles sitios donantes de corte y empalme y/o aceptores de corte y empalme; y modificar la secuencia de ácido nucleico en o cerca del uno o más sitios donantes de corte y empalme que se identificaron, generando de este modo un polinucleótido modificado. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos también incluyen la evaluación de la candidatura del transgén para la eliminación de sitios de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos también incluyen repetir una o más etapas anteriores hasta que la heterogeneidad del transcrito se reduzca en comparación con la heterogeneidad inicial del transcrito como se determina (tal como antes de la modificación).

En algunos casos descritos en el presente documento, pueden realizarse métodos de reducción de la heterogeneidad, tal como mediante retirada o eliminación de los puntos de corte y empalme previstos, después de la optimización de codones, o en ARN sin codones optimizados. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos implican identificar sitios de corte y empalme, tales como uno o más posibles sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme, y modificar o cambiar la secuencia del ARN (por ejemplo, reemplazando o sustituyendo uno o más nucleótidos en o cerca del sitio de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, la optimización de codones puede realizarse antes y/o después de los métodos de reducción de la heterogeneidad del ARN transcrito (por ejemplo, ARNm), tal como mediante la retirada o eliminación de los sitios de corte y empalme previstos. En algunos casos descritos en el presente documento, la determinación de si un transcrito es candidato para reducir la heterogeneidad del ARN se basa en el método de medición de la heterogeneidad del ARN, por ejemplo, como se describe en la Sección II.A del presente documento. En algunos casos descritos en el presente documento, un ácido nucleico transcrito que se detecta que tiene heterogeneidad se identifica como un transgén candidato para la eliminación de uno o más sitios de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, una secuencia transgénica puede ser candidata a reducir la heterogeneidad cuando el ácido nucleico transcrito del transgén candidato presenta al menos o al menos aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 % o más de heterogeneidad después de la expresión en una célula. En algunas realizaciones, después de la transcripción y el procesamiento del polinucleótido en una célula humana, opcionalmente un linfocito T humano, el ARN mensajero (ARNm) del polinucleótido, presenta al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de homogeneidad del ARN.

1. Métodos de reducción de la heterogeneidad del ARN

Se describen métodos de reducción de la heterogeneidad de un transcrito transgénico expresado. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos implican identificar uno o más posibles sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme y modificar la secuencia de ácido nucleico en o cerca del uno o más de los sitios donantes de corte y empalme identificados. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos también incluyen la evaluación de la candidatura del transgén para la eliminación de sitios de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, pueden repetirse una o más de las etapas descritas en el presente documento, por ejemplo, hasta que la posible heterogeneidad del ARN se reduzca en comparación con el transcrito de partida o sin modificar.

a) Identificación de sitios de corte y empalme

En algunas realizaciones, la presencia de posibles sitios de corte y empalme crípticos (sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme que están presentes en un transcrito, tal como un transcrito transgénico, puede dar como resultado la heterogeneidad del ARN del transcrito después de su expresión en una célula. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos implican identificar uno o más posibles sitios de corte y empalme que pueden estar presentes en el transcrito transgénico, que no se desean y/o que pueden crearse en un transcrito transgénico a partir de diversas secuencias subyacentes, después de la optimización de codones de un transcrito y/o mediante mutación o equivocación o error en la transcripción. En algunos de los casos descritos, los sitios donantes de corte y empalme y los sitios aceptores de corte y empalme se identifican independientemente. En algunos casos descritos en el presente documento, el sitio o sitios aceptores y/o donantes de corte y empalme son sitios aceptores y/o donantes de corte y empalme canónicos, no canónicos y/o crípticos.

En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos descritos incluyen identificar uno o más posibles sitios de corte y empalme (por ejemplo, uno o más sitios aceptores y/o donantes de corte y empalme canónicos, no canónicos y/o crípticos o sitios de ramificación) en un polinucleótido, tal como un polinucleótido que codifica un transgén, tal como un receptor recombinante, que puede presentar heterogeneidad del ARN o contener no deseada. También se divulgan polipéptidos que tienen números reducidos de dichos sitios de corte y empalme en comparación

con dichos polinucleótidos de referencia.

En algunos casos descritos en el presente documento, la identificación del uno o más sitios de corte y empalme en una secuencia de ácido nucleico es un proceso iterativo. En algunos casos descritos en el presente documento, pueden identificarse sitios de corte y empalme usando una herramienta de predicción de sitios de corte y empalme y/o de optimización de codones, tal como mediante la presentación de la secuencia de partida o de referencia que codifica el transgén, tal como un receptor de unión a BCMA, por ejemplo, CAR anti-BCMA, a una base de datos, un proveedor de síntesis génica u otra fuente capaz de comparar informática o algorítmicamente la secuencia de partida o de referencia para identificar o predecir los sitios de corte y empalme y/o para la optimización de codones y/o la eliminación de sitios de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, después de modificar la secuencia para optimizar codones y/o eliminar el sitio de corte y empalme, una o más evaluaciones adicionales de una secuencia, tal como una secuencia de ácido nucleico revisada o modificada, se realiza para evaluar adicionalmente la eliminación de sitios de corte y empalme, tales como sitios de corte y empalme crípticos, usando uno o más de otras herramientas de predicción de sitios de corte y empalme adicionales.

En algunos casos descritos en el presente documento, la heterogeneidad del ARN puede ser un resultado de la actividad del espliceosoma presente en una célula eucariota. En algunos casos descritos en el presente documento, normalmente el corte y empalme se realiza en una serie de reacciones catalizadas por el espliceosoma. Se conocen secuencias de consenso para los sitios de corte y empalme, pero en algunos casos en el presente documento se describe la información de nucleótidos específica que define un sitio de corte y empalme puede ser compleja y no resultar evidente basándose en los métodos disponibles. Los sitios de corte y empalme crípticos son sitios de corte y empalme que no se predicen basándose en las secuencias consenso convencionales y se activan de forma variable. Por ende, el corte y empalme variable del pre-ARNm en sitios de corte y empalme crípticos conduce a la heterogeneidad de los productos de ARNm transcritos después de su expresión en células eucariotas. En algunos casos que se describen en el presente documento, dentro de los intrones espliceosómicos, para que se produzca un evento de corte y empalme se requiere un sitio donante (por lo general en el extremo 5' del intrón), un sitio de ramificación (cerca del extremo 3' del intrón) y un sitio aceptor (extremo 3' del intrón). El sitio donante de corte y empalme puede incluir una secuencia GU en el extremo 5' del intrón, con una gran región menos altamente conservada. El sitio aceptor de corte y empalme en el extremo 3' del intrón puede terminar con una secuencia AG.

En algunos casos descritos en el presente documento, los sitios de corte y empalme, incluyendo posibles sitios de corte y empalme crípticos, pueden identificarse comparando secuencias con secuencias de sitios de corte y empalme conocidos, tales como aquellas en una base de datos de secuencias. En algunos casos descritos en el presente documento, los sitios de corte y empalme pueden identificarse informáticamente mediante la presentación de secuencias de nucleótidos para su análisis mediante herramientas de predicción de sitios de corte y empalme, tales como Human Splice Finder (Desmet *et al.*, Nucl. Acids Res. 37(9):e67 (2009)), una herramienta de predicción de sitios de corte y empalme de redes neuronales, NNSplice (Reese *et al.*, J. Comput. Biol., 4(4):311 (1997)), GeneSplicer (Pertea *et al.*, Nucleic Acids Res. 2001 29(5): 1185-1190) o NetUTR (Eden y Brunak, Nucleic Acids Res. 32(3):1131 (2004)), que identifican posibles sitios de corte y empalme y la probabilidad de que se produzca un evento de corte y empalme en dichos sitios. Las herramientas de predicción de corte y empalme adicionales incluyen RegRNA, ESEfinder y MIT splice predictor. Se han entrenado y/o sometido a ensayo satisfactoriamente herramientas de predicción de sitios de corte y empalme tales como GeneSplicer en bases de datos para diferentes especies, tales como ser humano, *Drosophila melanogaster*, *Plasmodium falciparum*, *Arabidopsis thaliana* y arroz. En algunos casos descritos en el presente documento, las diferentes herramientas de predicción pueden adaptarse a diferentes extensiones en diferentes bases de datos y/o para diferentes especies. En algunos casos descritos en el presente documento, la una o más herramientas de predicción se seleccionan basándose en su utilidad en determinadas bases de datos y/o para determinadas especies. Véase, por ejemplo, Saxonov *et al.*, (2000) Nucleic Acids Res., 28, 185-190.

En algunos casos descritos en el presente documento, se seleccionan una o más herramientas de predicción de sitios de corte y empalme para su uso en la determinación de posibles sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, pueden emplearse herramientas de predicción de sitios de corte y empalme que pueden ejecutarse localmente; que pueden volver a entrenarse con un conjunto de datos en el sitio del usuario; que pueden usar bases de datos para especies particulares (tales como la humana), que pueden compilarse para múltiples plataformas, que permiten predicciones en tiempo real para selecciones de secuencias y/o que es un software de código abierto certificado OSI de manera que puedan modificarse herramientas o plugins particulares. Las herramientas de ejemplo que pueden emplearse incluyen NNSplice, GeneSplicer o ambos.

En algunos casos descritos en el presente documento, las herramientas de predicción de sitios de corte y empalme se usan para identificar una lista de posibles sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme en una secuencia de manera una secuencia polinucleotídica que contiene secuencias transgénicas. En algunos casos descritos en el presente documento, las herramientas de predicción también pueden generar una o más puntuaciones de predicción para una o más secuencias en el polinucleótido, que pueden indicar las probabilidades de la una o más secuencias que son una secuencia de sitio donante o aceptor de corte y empalme.

En algunos casos descritos en el presente documento, el método implica comparar la puntuación de predicción de un sitio de corte y empalme particular con una puntuación umbral o una puntuación de referencia para determinar o

identificar un sitio de corte y empalme particular candidato de eliminación o retirada. Por ejemplo, en algunos casos descritos en el presente documento, el sitio de corte y empalme previsto se identifica como un posible sitio de corte y empalme cuando la puntuación de predicción es superior o no inferior a la puntuación umbral o la puntuación de referencia. En algunos casos descritos en el presente documento, las consideraciones para eliminar o suprimir un sitio de corte y empalme particular incluyen la puntuación de predicción en comparación con una puntuación de referencia o una puntuación umbral; y si un sitio de corte y empalme particular se desea o es intencionado (por ejemplo, cuando el evento de corte y empalme es más ventajoso o se requiere para la regulación de la transcripción y/o traducción). En algunos casos descritos en el presente documento, la probabilidad de que la variante de corte y empalme resultante pierda la función deseada o tenga una función comprometida también puede tenerse en cuenta a la hora de determinar sitios donantes y/o aceptores particulares para su retirada o eliminación. En algunos casos descritos en el presente documento, el uno o más posibles sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme presentan una puntuación de aproximadamente o al menos aproximadamente 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95, o 1,0 (es decir, en una escala con un máximo de 1,0) de un evento de corte y empalme o probabilidad de un evento de corte y empalme, y el sitio puede ser un candidato para la retirada o eliminación de sitios de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, la puntuación, por ejemplo, utilizada por GeneSplicer, en uno o más posibles donantes de corte y empalme y/o sitios de corte y empalme se basa en la diferencia entre la puntuación logarítmica de probabilidades devuelta para esa secuencia por el modelo de Markov verdadero y la puntuación es calculada por el modelo de Markov falso. En casos particulares descritos en el presente documento, los sitios donantes de corte y empalme y los sitios aceptores de corte y empalme se evalúan independientemente o individualmente. En algunos casos descritos en el presente documento, los sitios donantes de corte y empalme y los sitios aceptores de corte y empalme se evalúan como un par donante/aceptor de corte y empalme.

b) Eliminación de sitios de corte y empalme

En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos descritos implican la eliminación o supresión de uno o más sitios donantes de corte y empalme y/o aceptores de corte y empalme, tales como los posibles sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme que puedan estar implicados en un evento de corte y empalme críptico no deseado o que dé como resultado una heterogeneidad del ARN no deseada. En algunos casos descritos en el presente documento, la eliminación de uno o más sitios de corte y empalme comprende modificar uno o más nucleótidos (por ejemplo, por sustitución o reemplazo) en, que contienen o están cerca de los sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme candidatos para la retirada. En algunos casos descritos en el presente documento, un nucleótido particular dentro de un codón que está en, contiene o está cerca del sitio de corte y empalme se modifica (por ejemplo, se sustituye o reemplaza). En algunas realizaciones, la modificación (tal como sustitución o reemplazo) retiene o conserva el aminoácido codificado por el codón particular en el sitio, eliminando al mismo tiempo los posibles sitios donantes y/o aceptores de corte y empalme.

En algunos casos descritos en el presente documento, el codón en o cerca del sitio de corte y empalme para la modificación comprende uno o más codones que implican uno o ambos de los dos nucleótidos en el posible sitio de corte y empalme (en este caso denominado "codón de sitio de corte y empalme"). Cuando se prevé que el posible corte y empalme se producirá entre dos nucleótidos de un codón, el codón es el único codón de sitio de corte y empalme para este sitio de corte y empalme. Si se prevé que el posible corte y empalme se producirá entre dos codones adyacentes, por ejemplo, entre el último nucleótido del primer codón y el primer nucleótido del siguiente codón, los dos codones son codones de sitio de corte y empalme. Por ejemplo, para los sitios de corte y empalme que se prevé que estarán en los límites de dos codones, los dos codones adyacentes pueden ser candidatos a la modificación de nucleótidos. En algunos casos descritos en el presente documento, el uno o más codones comprenden un codón de sitio de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, el uno o más codones comprenden ambos codones de sitio de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, el método consiste en eliminar el posible sitio donante de corte y empalme modificando uno o ambos codones de sitio de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, el método consiste en eliminar un posible sitio donante aceptor de corte y empalme modificando uno o ambos codones de sitio de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, el uno o ambos codones en el sitio de corte y empalme no se modifica, por ejemplo, cuando no hay ningún codón sinónimo para el codón de sitio de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, si no hay codones sinónimos disponibles para el codón de sitio de corte y empalme particular, puede modificarse uno o más nucleótidos de un codón cercano. En algunos casos descritos en el presente documento, uno o más codones que se modifican incluyen un codón de sitio de corte y empalme, en donde la modificación comprende cambiar uno o ambos nucleótidos en el sitio de corte y empalme por un nucleótido diferente o nucleótidos diferentes. En algunas ocasiones, En algunos casos descritos en el presente documento, el método consiste en eliminar el sitio donante de corte y empalme modificando uno o ambos codones de sitio de corte y empalme, en donde la modificación no cambia uno o dos de los nucleótidos del sitio de corte y empalme a un nucleótido diferente, sino que se modifica un nucleótido cercano, por ejemplo, una parte de un codón adyacente al sitio de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, los nucleótidos cercanos o adyacentes que pueden modificarse incluyen la modificación de un nucleótido que forma parte de un codón cercano o adyacente, tal como un codón que está a uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez codones en dirección 5' o en dirección 3' del codón de sitio de corte y empalme.

En algunos casos, puede emplearse la modificación manual de los polinucleótidos, conservando al mismo tiempo la

secuencia de aminoácidos codificada, para reducir la probabilidad de un sitio de corte y empalme previsto. En algunos casos descritos en el presente documento, uno o más de los sitios de corte y empalme previstos que tienen al menos un 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de probabilidad de un sitio de corte y empalme se modifican manualmente para reducir la probabilidad del evento de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, la una o más modificaciones se realizan mediante sustitución o reemplazo nucleotídico de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 nucleótidos. En algunos casos descritos en el presente documento, la una o más modificaciones están en la unión del sitio donante de corte y empalme o están en la unión del sitio aceptor de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, al menos una de las una o más modificaciones de nucleótidos está a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 restos de la unión del sitio de corte y empalme del sitio aceptor de corte y empalme y/o donante de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, pueden generarse bibliotecas de secuencias de ácidos nucleicos modificadas con una probabilidad reducida de sitios de corte y empalme crípticos. En algunos casos descritos en el presente documento, los sitios donantes de corte y empalme y los sitios aceptores de corte y empalme se evalúan como un par donante/aceptor de corte y empalme. En particular, como se describe en el presente documento, los sitios donantes de corte y empalme y los sitios aceptores de corte y empalme se evalúan independientemente, o individualmente, y no forman parte de un par donante/aceptor de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, no se eliminan uno o más sitios de corte y empalme previstos. En algunos casos descritos en el presente documento, los sitios de corte y empalme, tales como los sitios de corte y empalme conocidos o previstos, dentro de la región promotora del transcrito, no se eliminan.

En algunos casos descritos en el presente documento, el método consiste en eliminar uno o más posibles sitios de corte y empalme donantes modificando uno o dos codones del sitio de corte y empalme o uno o más codones cercanos o adyacentes (por ejemplo, si no se dispone de un codón sinónimo para el codón de sitio de corte y empalme). En algunos casos descritos en el presente documento, el método consiste en eliminar uno o más posibles sitios de corte y empalme aceptores modificando uno o dos codones del sitio de corte y empalme o uno o más codones cercanos o adyacentes (por ejemplo, si no se dispone de un codón sinónimo para el codón de sitio de corte y empalme). En algunos casos descritos en el presente documento, el codón cercano o adyacente que está sujeto a modificación incluye un codón que está a uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez codones en dirección 5' o en dirección 3' del codón de sitio de corte y empalme, tal como un codón que está a uno, dos o tres codones del sitio de corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos pueden incluir la retirada o eliminación de un sitio de ramificación potencial para el corte y empalme. En algunos casos descritos en el presente documento, un nucleótido dentro del codón en el sitio de ramificación o cerca de él puede modificarse, por ejemplo, sustituirse o reemplazarse, para eliminar el corte y empalme críptico y/o reducir la heterogeneidad del ARN. En algunos casos descritos en el presente documento, la modificación del uno o más nucleótidos puede implicar una sustitución o reemplazo de uno de los nucleótidos que pueden estar implicados en el corte y empalme (tal como en el sitio donante de corte y empalme, el sitio aceptor de corte y empalme o el sitio de ramificación de corte y empalme), de manera que se conserve el aminoácido codificado por el codón, y la sustitución o el reemplazo de nucleótidos no cambie la secuencia polipeptídica codificada por el polinucleótido. En algunos casos, la tercera posición del codón es más degenerada que las otras dos posiciones. Por lo tanto, diversos codones sinónimos pueden codificar un aminoácido particular (véase, por ejemplo, la Sección II.B.2 a continuación). En algunos casos descritos en el presente documento, la modificación incluye el reemplazo del codón por un codón sinónimo utilizado en la especie de la célula en la que se introduce el polinucleótido (por ejemplo, humana). En algunos casos descritos en el presente documento, la especie es humana. En algunos casos descritos en el presente documento, el uno o más codones se reemplazan por un codón sinónimo correspondiente que es el más frecuentemente utilizado en la especie o codones sinónimos que tienen una frecuencia de uso similar (por ejemplo, la frecuencia de uso más próxima) como el codón correspondiente (véase, por ejemplo, la Sección II.B.2 a continuación).

En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos también incluyen la evaluación de la candidatura del transgén para la eliminación de sitios de corte y empalme, después de la modificación inicial propuesta. En algunos casos descritos en el presente documento, la modificación propuesta puede evaluarse de nuevo, para evaluar la modificación propuesta e identificar cualesquier posibles sitios de corte y empalme adicionales después de la modificación y/u optimización de codones. En algunos casos descritos en el presente documento, después de modificar la secuencia para optimizar codones y/o eliminar el sitio de corte y empalme, una o más evaluaciones adicionales de una secuencia, tal como una secuencia de ácido nucleico revisada o modificada, se realiza para evaluar adicionalmente la eliminación de sitios de corte y empalme, tales como sitios de corte y empalme crípticos, usando la misma herramienta o una o más de otras herramientas de predicción de sitios de corte y empalme o adicionales. En algunos casos descritos en el presente documento, las modificaciones propuestas se tienen en cuenta para las etapas posteriores, y puede usarse la optimización iterativa. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos también incluyen la repetición de cualesquiera de las etapas de identificación y/o modificación, por ejemplo, hasta que la heterogeneidad del transcrito se reduzca en comparación con la heterogeneidad del transcrito determinada inicialmente. En algunos casos descritos en el presente documento, puede hacerse una modificación adicional o diferente, tal como con un reemplazo de nucleótidos diferente en el mismo codón o una modificación en una posición o codón diferente, después de una evaluación y valoración interativa. En algunos casos descritos en el presente documento, puede usarse el codón sinónimo correspondiente, tal como el segundo más frecuentemente utilizado en la especie particular o un codón que tenga una frecuencia de uso similar (es decir, la frecuencia de uso más próxima) a la del codón correspondiente (véase, por ejemplo, la Sección II.B.2 a continuación).

En algunos casos descritos en el presente documento, una propuesta de modificación puede evaluarse adicionalmente, por ejemplo, para evaluar si la modificación genera un sitio de restricción no deseado o adicional en el polinucleótido. En algunos casos descritos en el presente documento, puede que no se desee un sitio de restricción adicional, y puede tenerse en cuenta una modificación adicional o diferente (es decir, con un reemplazo de nucleótidos diferente en el mismo codón o una modificación en una posición o codón diferente). En algunos casos descritos en el presente documento, se evita un sitio de restricción particular, tal como un sitio de restricción designado. En algunos casos descritos en el presente documento, si la modificación no reduce sustancialmente la puntuación de predicción de sitios de corte y empalme, puede proponerse una modificación adicional o alternativa. En algunos casos descritos en el presente documento, la puntuación de predicción de sitios de corte y empalme puede reducirse o disminuirse en al menos aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 % o 75 %, después de una o más iteraciones de los métodos.

En algunos casos de cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, puede usarse un sistema informático para ejecutar una o más etapas, herramientas, funciones, procesos o scripts. En determinados casos descritos en el presente documento, los métodos descritos en el presente documento son métodos implementados por ordenador y/o se realizan con la ayuda de un ordenador. En algunos casos descritos en el presente documento, la predicción, la evaluación y la modificación de sitios de corte y empalme para la eliminación o retirada de un sitio de corte y empalme pueden realizarse mediante métodos implementados por ordenador y/o mediante métodos que incluyen etapas que son etapas implementadas por ordenador. En algunos casos descritos en el presente documento, la comparación de las secuencias con una base de datos conocida, el cálculo de una puntuación de predicción de sitios de corte y empalme, la determinación de posibles modificaciones de nucleótidos, la optimización de codones y/o una cualquiera de las etapas iterativas pueden implementarse mediante un ordenador o usando etapas, herramientas, funciones, procesos o scripts implementados por ordenador. En particular, como se describe en el presente documento, se describe un sistema informático que comprende un procesador y una memoria, en donde la memoria contiene instrucciones operables para hacer que el procesador realice uno o más etapas de los métodos descritos en el presente documento. En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos incluyen etapas, funciones, procesos o scripts que se realizan informáticamente, por ejemplo, se realizan usando uno o más programas informáticos y/o a través del uso de algoritmos informáticos.

Las etapas, funciones, procesos o scripts de ejemplo de los métodos descritos para identificar y/o eliminar posibles sitios de corte y empalme incluyen uno o más etapas de: seleccionar secuencia, escribir secuencias en formato FASTA, cargar tabla de codones (es decir, de www.kazusa.or.jp/codon, ejecutar GeneSplicer, cargar predicciones, interpretar codones, determinar solapamientos en la predicción, identificar el siguiente codón sinónimo de mayor uso, revisar el sitio de restricción, crear anotaciones o evaluar otros codones. Las etapas particulares pueden evaluar tanto las cadenas directas como las inversas. En algunos casos descritos en el presente documento, también pueden tenerse en cuenta modificaciones de sitios de corte y empalme anotadas anteriormente, para permitir una optimización iterativa. En algunos casos descritos en el presente documento, una cualquiera o una o más de las etapas, funciones, procesos o scripts pueden repetirse.

En determinados casos descritos en el presente documento, los métodos descritos en el presente documento pueden ponerse en práctica, al menos en parte, con configuraciones de sistemas informáticos, incluyendo sistemas informáticos monoprocesador o multiprocesador, miniordenadores, ordenadores centrales, así como ordenadores personales, dispositivos informáticos portátiles, electrónica de consumo basada en microprocesadores y/o programable y similares, cada uno de los cuales puede comunicarse operativamente con uno o más dispositivos asociados. En particular, como se describe en el presente documento, los métodos descritos en el presente documento pueden ponerse en práctica, al menos en parte, en entornos informáticos distribuidos, de manera que determinadas tareas son realizadas por dispositivos de procesamiento remotos que están conectados a través de una red de comunicaciones. En un entorno informático distribuido, los módulos de programa pueden estar ubicados en dispositivos de almacenamiento de memoria locales y/o remotos. En particular, como se describe en el presente documento, algunas o todas las etapas de los métodos descritos en el presente documento pueden ponerse en práctica en ordenadores autónomos.

En particular, como se describe en el presente documento, algunas o todas las etapas de los métodos descritos en el presente documento pueden operar en el contexto general de instrucciones ejecutables por ordenador, tales como módulos de programa, plugins y/o scripts ejecutados por uno o más componentes. Generalmente, los módulos de programa incluyen rutinas, programas, objetos, estructuras de datos y/o scripts, que realizan tareas particulares o implementan tipos de datos abstractos particulares. Normalmente, la funcionalidad de los módulos de programa puede combinarse o distribuirse como se desee. En determinados casos descritos en el presente documento, las instrucciones operables para hacer que el procesador realice una cualquiera o más etapas de los métodos descritos en el presente documento pueden estar incorporadas en un medio legible por ordenador que tiene instrucciones ejecutables por ordenador y transmitidas como señales fabricadas para transmitir dichas instrucciones, así como los resultados de la realización de las instrucciones, por ejemplo, en una red. En algunos casos descritos en el presente documento, también se describen sistemas informáticos, instrucciones legibles por ordenador, software, sistemas, redes y/o dispositivos para llevar a cabo o realizar una o más etapas de los métodos descritos en el presente documento.

2. Optimización de codones

En algunas realizaciones, los polinucleótidos se modifican mediante la optimización de los codones para la expresión en seres humanos. En algunos casos descritos en el presente documento, la optimización de codones puede tenerse en cuenta antes y/o después de las etapas para la identificación de sitios de corte y empalme y/o la eliminación de sitios de corte y empalme, y/o en cada una de las etapas iterativas para reducir la heterogeneidad del ARN. La optimización de codones implica generalmente equilibrar los porcentajes de codones seleccionados con la abundancia, por ejemplo, la abundancia publicada, de los ARN de transferencia humanos, por ejemplo, de manera que ninguno esté sobrecargado ni sea limitante. En algunos casos, dicho equilibrio es necesario o útil porque la mayoría de los aminoácidos son codificados por más de un codón, y el uso de codones generalmente varía de un organismo a otro. Las diferencias en el uso de codones entre los genes o ácidos nucleicos transfectados o transducidos y las células hospedadoras pueden tener efectos sobre la expresión de proteínas a partir de la molécula de ácido nucleico. La **Tabla 3** a continuación expone una tabla de frecuencia de uso de codones humanos de ejemplo. En algunos casos descritos en el presente documento, para generar secuencias de ácidos nucleicos con codones optimizados, los codones se eligen para seleccionar aquellos codones que están en equilibrio con la frecuencia de uso humano. La redundancia de los codones para los aminoácidos es de manera que diferentes codones codifican un aminoácido, tal como se representa en la **Tabla 3.** Al seleccionar un codón para su reemplazo, se desea que la mutación resultante sea una mutación silenciosa de manera que el cambio de codón no afecte a la secuencia de aminoácidos. Generalmente, el último nucleótido del codón (por ejemplo, en la tercera posición) puede permanecer inalterado sin afectar a la secuencia de aminoácidos.

Tabla 3. Frecuencia de uso de codones humanos

Codón humano	aminoácido	frec./ 1000	número		Codón humano	aminoácido	frec./ 1000	número
TTT	F	17,6	714298		TCT	S	15,2	618711
TTC	F	20,3	824692		TCC	S	17,7	718892
TTA	L	7,7	311881		TCA	S	12,2	496448
TTG	L	12,9	525688		TCG	S	4,4	179419
CTT	L	13,2	536515		CCT	P	17,5	713233
CTC	L	19,6	796638		CCC	P	19,8	804620
CTA	L	7,2	290751		CCA	P	16,9	688038
CTG	L	39,6	1611801		CCG	P	6,9	281570
ATT	I	16	650473		ACT	T	13,1	533609
ATC	I	20,8	846466		ACC	T	18,9	768147
ATA	I	7,5	304565		ACA	T	15,1	614523
ATG	M	22	896005		ACG	T	6,1	246105
GTT	V	11	448607		GCT	A	18,4	750096
GTC	V	14,5	588138		GCC	A	27,7	1127679
GTA	V	7,1	287712		GCA	A	15,8	643471
GTG	V	28,1	1143534		GCG	A	7,4	299495
TAT	Y	12,2	495699		TGT	C	10,6	430311

(continuación)

Tabla 3. Frecuencia de uso de codones humanos								
Codón humano	**aminoácido**	**frec./ 1000**	**número**		**Codón humano**	**aminoácido**	**frec./ 1000**	**número**
TAC	Y	15,3	622407		TGC	C	12,6	513028
TAA	*	1	40285		TGA	*	1,6	63237
TAG	*	0,8	32109		TGG	W	13,2	535595
CAT	H	10,9	441711		CGT	R	4,5	184609
CAC	H	15,1	613713		CGC	R	10,4	423516
CAA	Q	12,3	501911		CGA	R	6,2	250760
CAG	Q	34,2	1391973		CGG	R	11,4	464485
AAT	N	17	689701		AGT	S	12,1	493429
AAC	N	19,1	776603		AGC	S	19,5	791383
AAA	K	24,4	993621		AGA	R	12,2	494682
AAG	K	31,9	1295568		AGG	R	12	486463
GAT	D	21,8	885429		GGT	G	10,8	437126
GAC	D	25,1	1020595		GGC	G	22,2	903565
GAA	E	29	1177632		GGA	G	16,5	669873
GAG	E	39,6	1609975		GGG	G	16,5	669768

Por ejemplo, los codones TCT, TCC, TCA, TCG, AGT y AGC codifican todos Serina (nótese que la T en el ADN equivale a la U en el ARN). A partir de una frecuencia de uso de codones humanos, tal como se expone en la **Tabla 3** anterior, las frecuencias de uso correspondientes para estos codones son 15,2, 17,7, 12,2, 4,4, 12,1 y 19,5, respectivamente. Puesto que TCG corresponde al 4,4 %, si este codón se usase habitualmente en la síntesis génica, el ARNt para este codón sería limitante. En la optimización de codones, el objetivo es equilibrar el uso de cada codón con la frecuencia normal de uso en la especie animal en la que se prevé expresar el transgén.

C. CAR anti-BCMA optimizado

En algunos casos descritos en el presente documento, una secuencia de partida o de referencia que codifica un transgén, tal como un CAR anti-BCMA, se evalúa la optimización de codones y/o la eliminación de sitios de corte y empalme.

En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos se realizan en un CAR anti-BCMA, tal como un CAR que contiene un dominio de unión a antígeno scFv específico para BCMA, un espaciador, tal como un espaciador expuesto en la SEQ ID NO: 649, una región de señalización coestimuladora, tal como un dominio de señalización coestimulador de 4-1BB y una región de señalización de CD3 zeta. En las Tablas 3 y 4 a continuación se enumeran sitios donantes de corte y empalme y sitios aceptores de corte y empalme identificados de ejemplo, y sus puntuaciones correspondientes, para CAR anti-BCMA de ejemplo.

Tabla 4. Sitios donantes de corte y empalme previstos						
	SECUENCIA DE PARTIDA			SECUENCIA DE O/SSE		
Región de construcción	sitio donante de corte y empalme	SEQ ID NO	Puntuación de corte y empalme	sitio donante de corte y empalme optimizado	SEQ ID NO	Puntuación de corte y empalme
promotor	cgtctag**gt**aagttt	689	1	sin cambio		<0,7
Codificación de scFv						
BCMA-23	gaccaag**gt**gaccgt	690	N/A	caccaag**gt**gaccgt	698	0,54
BCMA-26	tgcactg**gt**accagc	691	0,55	sin cambio		
BCMA-52	taaactg**gt**accagc	692	0,76	tgaactg**gt**atcagc	699	<0,7
BCMA-52	atctcct**gt**aagggt	693	0,79	atctctt**ga**aatggt	700	<0,7
BCMA-52	ggtcaag**gt**actctg	694	0,85	ggccagg**gc**acactg	701	<0,7
BCMA-55	gaggaca**gt**aagcgg	695	0,66	gaggaca**gc**aagagg	702	<0,5
BCMA-55	ggtcaag**gt**actctg	696	0,85	ggccagg**ga**accctg	703	<0,5
BCMA-55	tgcctcc**gt**gtctgc	697	<0,50	tgccagc**gt**tagtgc	704	0,60
Codificación de espaciador						
	aatctaa**gt**acggac	705	0,65	agtctaaatacggac	661	<0,7
	tcaactg**gt**acgtgg	706	0,96	tcaactg**gt**atgtgg	662	<0,7
	tcaattg**gt**acgtgg	616	0,97	tcaactg**gt**atgtgg	662	<0,7
	acaatta**gt**aaggca	707	0,43	accatctccaaggcc	663	<0,7
	accacag**gt**gtatac	708	0,42	gccccag**gt**ttacac	664	<0,7
Codificación de la región de señalización de CD3zeta	tttccag**gt**ccgccg	709	0,74	tcagcag**at**ccgccg	665	<0,7
Codificación del marcador indirecto del receptor truncado						
	ctgctct**gt**gagtta	710	0,56	ctcctgt**gt**gaactc	666	<0,7
	acgcaaa**gt**gtgtaa	711	0,5	tcggaaa**gt**gtgcaa	667	<0,7
	caacatg**gt**cagttt	712	0,71	cagcacg**gc**cagttt	668	<0,7
	aacagag**gt**gaaaa c	713	0,42	aaccggg**gc**gagaac	669	<0,7
	ctggagg**gt**gagcca	714	0,82	ctggaag**gc**gagccc	670	<0,7
	tcttcat**gt**gagcgg	720	0,84	tgttcat**gt**gagcgg	671	<0,7

Tabla 4. Sitios aceptores de corte y empalme previstos						
	SECUENCIA DE PARTIDA			SECUENCIA DE O/SSE		
Región de construcción	sitio aceptor de corte y empalme	SEQ ID NO	puntuación de corte y empalme	sitio aceptor de corte y empalme optimizado	SEQ ID NO	Puntuación de corte y empalme
Promotor						
	tggctccgcctttttcccgag ggtgggggagaaccgtatat	721	0,50	sin cambio		
	tgaactgcgtccgccgtctag gtaagtttaaagctcaggtc	722	0,71	sin cambio		
	ttctgttctgcgccgttacag atccaagctgtgaccggcgc	723	0,89	sin cambio		
Codificación de scFv						
BCMA-23	ctactacatgagctggatccg ccaggctccagggaagggc	724	N/A	ctactatatgtcctggatcag acaggcacctggcaagggcc	735	0,46
BCMA-23	ggctgattattattgtagctc atatggaggtagtaggtctt	725	N/A	ggcagattactattgttctag ctacggcggcagcagatcct	736	0,55
BCMA-25	ctatgccatgtcctggttcag gcaggcaccaggcaagggcc	726	0,95	ctatgccatgtcctggttcaa gcaggcaccaggcaagggcc	737	<0,7
BCMA-25	gtccgcctctgtgggcgatag ggtgaccgtgacatgtcgcg	727	0,50	sin cambio		
BCMA-25	grggcttttatccgctctaag gcctacggcggcaccacaga	728	0,55	sin cambio		
BCMA-25	gtgacatgtcgcgcctcccag ggcatctctaactacctggc	729	0,67	sin cambio		
BCMA-25	tacaggcgcctccaccctgcag agcggagtgccctcccggtt	730	0,66	sin cambio		
BCMA-52	ctggccatcagtggcctccag tctgaggatgaggctgatta	731	<0,50	ctggctatttctggactgcag agcgaggacgaggccgacta	738	0,62
BCMA-52	agatacagcccgtccttccaa ggccacgtcaccatctcagc	732	<0,50	agatacagccctagctttcag ggccacgtgaccatcagcgc	739	0,67
BCMA-55	cgaggctgattattactgccag ctcaaatacaagaagcagca	733	0,79	cgaggccgattactactgcag cagcaacaccgggtccagca	740	<0,40
BCMA-55	gccctcaggggtttctaatcg cttctctggctccaagtctg	734	<0,50	gccagcggcgtgtccaatag attcagcggcagcaagagcg	741	0,40
Codificación de espaciador						
	cgccttgtcctccttgtccag ctcctcctgttgccggacct	765	0,84	cgccttgtcctccttgtcccg ctcctcctgttgccggacct	766	<0,7

Tabla 4. Sitios aceptores de corte y empalme previstos						
	SECUENCIA DE PARTIDA			SECUENCIA DE O/SSE		
Región de construcción	sitio aceptor de corte y empalme	SEQ ID NO	puntuación de corte y empalme	sitio aceptor de corte y empalme optimizado	SEQ ID NO	Puntuación de corte y empalme
	aagtttctttctgtattccag gctgaccgtggataaatctc	742	0,97	cagtttcttcctgtatagtag actcaccgtggataaatcaa	672	<0,7
	aagtttctttctgtattccac gctgaccgtggataaatctc	742	0,97	aagtttctttctgtattccag actgaccgtggataaatctc	854	
	gggcaacgtgttctcttgcag tgtcatgcacgaagcctgc	743	0,55	gggcaacgtgttcagctgcag cgtgatgcacgaggccctgc	673	<0,7
	cagtttcttcctgtatagtag actcaccgtggataaatcaa	767	0,74	Sin cambio		
Codificación de TM de CD28	agggtgctggcctgttacag cctgctggtgacagtcgctt	744	0,4	cggagtgctggcctgttacag cctgctggttaccgtggcct	674	0,75
Codificación de la región de señalización de 4-1BB/CD3zeta	gctgagagtcaagttttccac gtccgccgacgctccagcct	745	0,55	gctgagagtgaagttcagcag atccgccgacgctccagcct	675	<0,7
Codificación del Marcador indirecto del receptor truncado						
	actcctcctctggatccacag gaactggatatctgaaaac	746	0,74	acacctccactggatccccaa gagctggatatcctgaaaac	676	<0,7
	acaggctttttgctgattcag gcttgcctgaaaacaggac	747	0,73	acaggatttcctcctgatccaa gcctggccagagaacagaac	677	<0,7
	acaggatttcctcctgattcag gcctggccagagaacagaac	768	0,82	acaggattcctcctgatccaa gcctggccagagaacagaac	677	<0,7
	atggtcagttttctcttgcag tcgtcagcctgaacataacc	748	0,89	acggccagtttagcctggctg tggtgtctctgaacatcacc	678	<0,7

En algunos casos descritos en el presente documento, la secuencia o secuencias de ácido nucleico modificadas resultantes se sintetizan a continuación y se usan para transducir células con el fin de someter a ensayo el corte y empalme, como indica la heterogeneidad del ARN. Los métodos de ejemplo son como a continuación y como se describe en los Ejemplos. Brevemente, se recoge ARN de las células que lo expresan, se amplifica mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y se resuelve mediante electroforesis en gel de agarosa para determinar la heterogeneidad del ARN, en comparación con la secuencia de partida. En algunos casos, las secuencias mejoradas pueden volver a presentarse al proveedor de síntesis génica para una mayor optimización de codones y eliminación de sitios de corte y empalme, seguido de evaluación, modificación, síntesis y ensayos de sitios de corte y empalme crípticos adicionales, hasta que el ARN en el gel de agarosa presenta una heterogeneidad del ARN mínima.

En algunos casos descritos en el presente documento, los métodos descritos para optimizar una secuencia codificante de ácido nucleico que codifica un transgén, tal como un CAR anti-BCMA divulgado en el presente documento, o una construcción divulgada en el presente documento, son reducir o eliminar sitios de corte y empalme crípticos (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 622 para consultar una secuencia espaciadora con codones optimizados y con sitios de corte y empalme eliminados de ejemplo) y optimizar el uso de codones humanos (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 855 para consultar una secuencia espaciadora y con codones optimizados de ejemplo). En los Ejemplos se describe una estrategia de optimización de ejemplo.

En algunas realizaciones, se divulgan polinucleótidos que codifican un receptor de antígeno quimérico, que comprende ácido nucleico que codifica: (a) un dominio de unión BCMA extracelular que reconoce específicamente BCMA, incluyendo cualquiera de los dominios de unión a antígeno que se describen a continuación; (b) un espaciador de al menos 125 aminoácidos de longitud; (c) un dominio transmembrana; y (d) una región de señalización intracelular, en donde después de la expresión del polinucleótido en una célula, el ARN transcrito, opcionalmente ARN mensajero (ARNm), a partir del polinucleótido, presenta al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de homogeneidad del ARN, como se reivindica. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno comprende una región V_H y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno comprende una región V_H que es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de la SEQ ID NO: 617; y una región V_L que es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de la SEQ ID NO: 618. En algunas ocasiones, En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 596, 597 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 598, 599 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente; o una región V_H que es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 617; y una región V_L es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 618. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de ejemplo en el receptor de antígeno quimérico codificado por el polinucleótido incluye aquellos descritos en cada fila de la **Tabla 2** del presente documento. En cualquiera de dichas realizaciones, el dominio transmembrana del CAR es o comprende un dominio transmembrana derivado de un CD28; la región de señalización intracelular comprende un dominio de señalización citoplasmática de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de la misma y una región de señalización coestimuladora comprende un dominio de señalización intracelular de 4-1BB.

En algunas realizaciones, se divulgan polinucleótidos que codifican un receptor de antígeno quimérico, que comprende ácido nucleico que codifica: (a) un dominio de unión BCMA extracelular que reconoce específicamente BCMA, incluyendo cualquiera de los dominios de unión a antígeno que se describen a continuación; (b) (b) un espaciador, en donde el ácido nucleico codificante es o comprende, o consiste o consiste prácticamente en, la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 622 o codifica una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 649; (c) un dominio transmembrana; y (d) una región de señalización intracelular. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno comprende una región V_H y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno comprende una región V_H que es o comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada de la SEQ ID NO: 617; y una región V_L que es o comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 contenidas dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada de la SEQ ID NO: 618.

En algunas ocasiones, En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 596, 597 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 598, 599 y 595, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o una región V_H que comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 611, 612 y 613, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 614, 615 y 603, respectivamente; o una región V_H que es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 617; y una región V_L es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 618. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno de ejemplo en el receptor de antígeno quimérico codificado por el polinucleótido incluye aquellos descritos en cada fila de la **Tabla 2** del presente documento. En cualquiera de dichas realizaciones, el dominio transmembrana del CAR es o comprende un dominio transmembrana derivado de un CD28; la región de señalización intracelular comprende un dominio de señalización citoplasmática de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de la misma y una región de señalización coestimuladora comprende un dominio de señalización intracelular de 4-1BB.

En el presente documento también se divulgan polinucleótidos modificados de ejemplo, incluyendo polinucleótidos que se modificaron para la optimización de codones (O) y/o la eliminación de sitios de corte y empalme (SSE). Se exponen ejemplos de dichos polinucleótidos en la **Tabla 5**, en donde se divulgan secuencias de nucleótidos (nt) de ejemplo para los componentes de las construcciones de CAR de ejemplo antes de la eliminación de sitios de corte y empalme y la optimización de codones (sin opt), secuencias de ácidos nucleicos (nt) para los componentes de las construcciones de CAR después de la eliminación de sitios de corte y empalme y la optimización (O/SSE), y las correspondientes secuencias de aminoácidos (aa) codificadas por las secuencias de ácidos nucleicos. Los componentes incluyen la secuencia de señalización de IgG-kappa (ss), el scFv anti-BCMA, una región espaciadora como se reivindica, un dominio transmembrana (tm), una secuencia de coseñalización (4-1BB coseñ o CD28 coseñ), un dominio de señalización de CD3-ζ (CD3-ζ), un elemento de salto ribosómico T2A (T2A) y una secuencia truncada del receptor de EGF (EGFRt). Las secuencias polinucleotídicas de las construcciones de CAR de ejemplo se exponen en las SEQ ID NO: 751-756, que codifican las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 757-762.

Tabla 5. Componentes de CAR de BCMA de ejemplo (SEQ ID NO)

Construcción	**Secuencia**	**ss**	**scFv**	**espaciador**	**TM**	**4-1BB coestimulador**	**CD3-ζ**
CAR de BCMA-23-L	sin opt (nt)	619	352	621	623	625	627
CAR de BCMA-23-L CO/SSE	O/SSE (nt)	684	715	622 u 856	688	681	652
ambos	aa	620	278	649	624	626	628
CAR de BCMA-25-L	sin opt (nt)	619	716	621	623	625	627
CAR de BCMA-25-L CO/SSE	O/SSE (nt)	682	717	622 u 856	688	681	652
ambos	Aa	620	559	649	624	626	628
CAR de BCMA-26-L	sin opt (nt)	619	718	621	623	625	627
CAR de BCMA-26-L CO/SSE	O/SSE (nt)	685	719	622 u 856	688	681	652
ambos	aa	620	560	649	624	626	628
CAR de BCMA-52-L	sin opt (nt)	619	647	621	623	625	627
CAR de BCMA-52-L CO/SSE	O/SSE (nt)	682	440	622 u 856	688	681	652
ambos	Aa	620	442	649	624	626	628
CAR de BCMA-55-L	sin opt (nt)	619	648	621	623	625	627
CAR de BCMA-55-L CO/SSE	O/SSE (nt)	683	460	622 u 856	688	681	652
ambos	aa	620	478	649	624	626	628
Construcción	**Secuencia**	**ss**	**scFv**	**espaciador**	**TM**	**CD28 coestimulador**	**CD3-ζ**
CAR de BCMA-55-L-CD28	sin opt (nt)	619	648	621	623	679	627
CAR de BCMA-55-L-CD28 CO/SSE	O/SSE (nt)	683	460	622	688	679	652
ambos	aa	620	478	649	624	680	628

III. CÉLULAS MODIFICADAS POR INGENIERÍA

También se divulgan células tales como células modificadas por ingeniería que contienen un receptor de antígeno quimérico tal como uno que contiene un dominio extracelular que incluye un anticuerpo o fragmento anti-BCMA como se ha divulgado en el presente documento. También se divulgan poblaciones de dichas células, composiciones que

contienen dichas células y/o que están enriquecidas de dichas células, tales como en las células que expresan el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA constituyen al menos el 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 por ciento o más de las células totales en la composición o células de un determinado tipo, tales como linfocitos T o células CD8+ o CD4+. Entre las composiciones se encuentran composiciones farmacéuticas y formulaciones para administración, tal como para la terapia celular adoptiva. También se divulgan métodos terapéuticos para administrar las células y composiciones a sujetos, por ejemplo, pacientes.

Por lo tanto, también se divulgan células modificadas por ingeniería genética que expresan los CAR. Las células generalmente son células eucariotas, tales como células de mamífero y normalmente son células humanas. En algunas realizaciones, las células se obtienen de la sangre, médula ósea, linfa u órganos linfoides, son células del sistema inmunitario, tales como células del sistema inmunitario innato o adaptativo, por ejemplo, células mieloides o linfoides, incluyendo linfocitos, normalmente linfocitos T y/o linfocitos citolíticos naturales. Otras células de ejemplo incluyen células madre, tales como las células madre multipotentes y pluripotentes, incluidas las células madre pluripotentes inducidas (iPSC). Las células normalmente son células primarias, tales como las aisladas directamente de un sujeto y/o las aisladas de un sujeto y congeladas. En algunas realizaciones, las células incluyen uno o más subconjuntos de linfocitos T u otros tipos de células, tales como poblaciones de linfocitos T completas, células CD4+, células CD8+ y subpoblaciones de las mismas, tales como aquellas definidas por su función, estado de activación, madurez, potencial de diferenciación, expansión, recirculación, ubicación y/o capacidad de persistencia, especificidad antigénica, tipo de receptor de antígeno, presencia en un órgano o compartimento particular, perfil de marcadores o secreción de citocinas y/o grado de diferenciación. Con referencia al sujeto que ha de tratarse, las células pueden ser alógenas y/o autólogas. Entre los métodos se incluyen métodos existentes. En algunas realizaciones, como para tecnologías existentes, las células son pluripotentes y/o multipotentes, tales como células madre, tales como las células madre pluripotentes inducidas (iPSC). En algunas realizaciones, los métodos incluyen aislar células del sujeto, prepararlas, procesarlas, cultivarlas y/o modificarlas por ingeniería, como se describe en el presente documento, y volverlas a introducir en el mismo paciente, antes o después de su crioconservación.

Entre los subtipos y subpoblaciones de linfocitos T y/o de linfocitos T CD4+ y/o de T CD8+ están los linfocitos T sin exposición previa (T_N), los linfocitos T efectores (T_{EF}), los linfocitos T de memoria y subtipos de los mismos, tales como los linfocitos T madre de memoria (T_{SCM}), T de memoria central (T_{CM}), T de memoria efectores (T_{EM}) o linfocitos T efectores de memoria diferenciados terminalmente, linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), linfocitos T inmaduros, linfocitos T maduros, linfocitos T auxiliares, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T invariantes asociados a mucosas (MAIT), linfocitos T reguladores (Treg) adaptativos y de origen natural, linfocitos T auxiliares, tales como linfocitos TH1, linfocitos TH2, linfocitos TH3, linfocitos TH17, linfocitos TH9, linfocitos TH22, linfocitos T auxiliares foliculares, linfocitos T alfa/beta y linfocitos T delta/gamma.

En algunas realizaciones, las células son linfocitos citolíticos naturales (NK). En algunas realizaciones, las células son monocitos o granulocitos, por ejemplo, células mieloides, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, mastocitos, eosinófilos y/o basófilos.

En algunas realizaciones, las células incluyen uno o más polinucleótidos introducidos mediante modificación por ingeniería genética, y de ese modo expresan productos recombinantes o modificados por ingeniería genética de dichos polinucleótidos. En algunas realizaciones, los polinucleótidos son heterólogos, es decir, que normalmente no están presentes en una célula o muestra obtenida de la célula, tal como una obtenida de otro organismo o célula, que, por ejemplo, normalmente no se encuentra en la célula que se está modificando por ingeniería y/o en un organismo del que se obtiene dicha célula. En algunas realizaciones, los polinucleótidos no son de origen natural, tal como un polinucleótido que no se encuentra en la naturaleza, incluyendo uno que comprende combinaciones quiméricas de polinucleótidos que codifican diversos dominios de múltiples tipos de células diferentes. En algunas realizaciones, las células (por ejemplo, células modificadas por ingeniería) comprenden un vector (por ejemplo, un vector vírico, vector de expresión, etc.) como se divulga en el presente documento, tal como un vector que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico divulgado en el presente documento.

A. Vectores y métodos para la modificación por ingeniería genética

También se divulgan métodos, los polinucleótidos, composiciones y kits, para expresar los CAR anti-BCMA, y para producir las células modificadas por ingeniería genética que expresan dichos CAR. En algunas realizaciones, uno o más CAR pueden modificarse por ingeniería genética en células o una pluralidad de células. La ingeniería genética generalmente implica la introducción de un ácido nucleico que codifica el componente recombinante o modificadas por ingeniería en la célula, tal como por transducción retrovírica, transfección o transformación.

También se divulgan polinucleótidos que codifican los receptores y/o porciones de antígenos quiméricos anti-BCMA, por ejemplo, cadenas, de los mismos. Entre los polinucleótidos divulgados están aquellos que codifican los receptores de antígenos quiméricos anti-BCMA (por ejemplo, fragmento de unión a antígeno) descritos en el presente documento. En el presente documento también se describen polinucleótidos que codifican uno o más anticuerpos y/o porciones de los mismos, por ejemplo, aquellos que codifican uno o más de los anticuerpos anti-BCMA (por ejemplo, fragmento de unión a antígeno) descritos en el presente documento y/u otros anticuerpos y/o porciones de los mismos, por ejemplo, anticuerpos y/o porciones de la misma que se unen a otros antígenos diana. Los polinucleótidos pueden

incluir aquellos que abarcan nucleótidos y bases naturales y/o no naturales, por ejemplo, incluidos aquellos con modificaciones en la estructura principal. Las expresiones "molécula de ácido nucleico", "ácido nucleico" y "polinucleótido" se pueden usar indistintamente y se refieren a un polímero de nucleótidos. Dichos polímeros de nucleótidos pueden contener nucleótidos naturales y/o no naturales e incluyen, pero sin limitación, ADN, ARN y PNA. "Secuencia de ácido nucleico" se refiere a la secuencia lineal de nucleótidos que comprende la molécula de ácido nucleico o polinucleótido.

También se divulgan polinucleótidos que se han optimizado para el uso de codones y/o para eliminar sitios de corte y empalme, tales como sitios de corte y empalme crípticos. También se describen métodos de optimización y producción de las secuencias codificantes de los receptores de antígenos quiméricos, tales como cualquiera de los receptores de antígenos quiméricos descritos en el presente documento. Dichos métodos se describen en la Sección II del presente documento.

También se divulgan vectores que contienen los polinucleótidos, tales como cualquiera de los polinucleótidos descritos en el presente documento, y células hospedadoras que contienen los vectores. En algunas realizaciones, el vector es un vector vírico. En algunas realizaciones, el vector es un vector retrovírico o un vector lentivírico. También se describen métodos para producir los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. El ácido nucleico puede codificar una secuencia de aminoácidos que comprende la región V_L y/o una secuencia de aminoácidos que comprende la región V_H del anticuerpo (por ejemplo, las cadenas ligeras y/o pesadas del anticuerpo). El ácido nucleico puede codificar una o más secuencias de aminoácidos que comprenden la región V_L y/o una secuencia de aminoácidos que comprende la región V_H del anticuerpo (por ejemplo, las cadenas ligeras y/o pesadas del anticuerpo). En un caso adicional, se divulgan uno o más vectores (por ejemplo, vectores de expresión) que comprenden dichos polinucleótidos. En un caso adicional, se divulga una célula hospedadora que comprende dichos polinucleótidos. En uno de dichos casos, una célula hospedadora comprende (por ejemplo, se ha transformado con) un vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la región V_H del anticuerpo. En otro ejemplo de este tipo, una célula hospedadora comprende (por ejemplo, se ha transformado con) (1) un vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la región V_L del anticuerpo y una secuencia de aminoácidos que comprende la región V_H del anticuerpo o (2) un primer vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la región V_L del anticuerpo y un segundo vector que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende la región V_H del anticuerpo. En algunos casos descritos en el presente documento, una célula hospedadora comprende (por ejemplo, se ha transformado con) uno o más vectores que comprenden uno o más ácidos nucleicos que codifican uno o más una secuencias de aminoácidos que comprenden uno o más anticuerpos y/o porciones de los mismos, por ejemplo, fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En algunos casos descritos en el presente documento, se divulgan una o más de dichas células hospedadoras. En algunos casos descritos en el presente documento, se divulga una composición que contiene una o más de dichas células hospedadoras. En algunos casos descritos en el presente documento, una o más células hospedadoras pueden expresar anticuerpos diferentes o el mismo anticuerpo. En algunos casos descritos en el presente documento, cada una de las células hospedadoras puede expresar más de un anticuerpo.

En el presente documento también se describen métodos de fabricación de los receptores de antígenos quiméricos anti-BCMA. Para la producción recombinante de los receptores quiméricos, una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo contra receptores quiméricos, por ejemplo, como se describe en el presente documento, se puede aislar e insertar en uno o más vectores para la clonación y/o expresión adicional en una célula hospedadora. Dicha secuencia de ácido nucleico puede aislarse y secuenciarse fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas de oligonucleótidos que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo). En algunos casos descritos en el presente documento, se divulga un método de fabricación del receptor de antígeno quimérico anti-BCMA, en donde el método comprende cultivar una célula hospedadora que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el anticuerpo, como se ha divulgado anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del receptor.

En algunos casos descritos en el presente documento, para la producción de polipéptidos aislados o secretados, además de los microbios procariotas, los eucariotas, tales como hongos filamentosos o levaduras, son hospedadores de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican anticuerpos, incluyendo cepas de hongos y levaduras cuyas vías de glicosilación se han modificado para imitar o aproximarse a las de las células humanas, dando como resultado la producción de un anticuerpo con un patrón de glicosilación parcial o totalmente humano. Véanse Gerngross, Nat. Biotech. 22: 1409-1414 (2004) y Li *et al.*, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).

Las células eucariotas de ejemplo que pueden usarse para expresar polipéptidos, incluyendo polipéptidos aislados o secretados, incluyen, pero sin limitación, células COS, incluyendo células COS 7; células 293, incluyendo células 293-6E; células CHO, incluyendo CHO-S, DG44. células Lec13 CHO y células FUT8 CHO; células PER.C6®; y células NSO. En algunas realizaciones, las cadenas pesadas y/o las cadenas ligeras del anticuerpo (por ejemplo, región V_H y/o región V_L) pueden expresarse en levadura. Véase, por ejemplo, la Publicación de los EE. UU. N.º US 2006/0270045 A1. En algunas realizaciones, una célula hospedadora eucariota particular se selecciona basándose en su capacidad para realizar las modificaciones postraduccionales deseadas en las cadenas pesadas y/o cadenas ligeras (por ejemplo, región V_H y/o región V_L). Por ejemplo, en algunas realizaciones, las células CHO producen polipéptidos que

tienen un mayor nivel de sialilación que el mismo polipéptido producido en células 293.

En células inmunitarias de ejemplo particulares, dichas células inmunitarias humanas se usan para expresar los polipéptidos divulgados que codifican receptores de antígenos quiméricos. En algunos ejemplos, los inmunocitos son linfocitos T, tales como células inmunitarias CD4+ y/o CD8+, incluyendo células primarias, tales como células primarias CD4+ y CD8+.

En algunos casos descritos en el presente documento, la transferencia de genes se logra estimulando primero la célula, tal como combinándola con un estímulo que induzca una respuesta tal como proliferación, supervivencia y/o activación, por ejemplo, medida mediante la expresión de una citocina o marcador de activación, seguida de la transducción de las células activadas y la expansión en cultivo a cantidades suficientes para aplicaciones clínicas.

En algunos contextos, la sobreexpresión de un factor estimulador (por ejemplo, una linfocina o una citocina) puede ser tóxica para un sujeto. Por lo tanto, en algunos contextos, las células modificadas por ingeniería incluyen segmentos de genes que hacen que las células sean susceptibles a la selección negativa *in vivo*, tal como después de la administración en inmunoterapia adoptiva. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las células se modifican por ingeniería para que se puedan eliminar como resultado de un cambio en la afección *in vivo* del paciente al que se administran. El fenotipo seleccionable negativo puede ser resultado de la inserción de un gen que confiere sensibilidad a un agente administrado, por ejemplo, un compuesto. Los genes seleccionables negativos incluyen el gen de la timidina cinasa del virus del herpes simple de tipo I (HSV-I TK) (Wigler *et al.*, Cell 2:223, 1977) que confiere sensibilidad al ganciclovir; el gen de la hipoxantina fosforribosiltransferasa celular (HPRT), el gen de la adenina fosforribosiltransferasa celular (APRT), citosina desaminasa bacteriana, (Mullen *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:33 (1992)).

En algunas realizaciones, las células también se modifican por ingeniería para promover la expresión de citocinas u otros factores. Diversos métodos para la introducción de componentes transgénicos, por ejemplo, CAR, son bien conocidos y pueden usarse con los métodos y composiciones divulgados. Los métodos de ejemplo incluyen aquellos para la transferencia de polinucleótidos que codifican los receptores de antígenos quiméricos, incluyendo a través de transducción vírica, por ejemplo, retrovírica o lentivírica, transposones y electroporación.

En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos recombinantes se transfieren a las células usando partículas víricas infecciosas recombinantes, tales como, por ejemplo, vectores derivados del virus del simio 40 (SV40), adenovirus, virus adenoasociado (AAV). En las realizaciones, los polinucleótidos recombinantes se transfieren a los linfocitos T usando vectores lentivíricos o vectores retrovíricos recombinantes, tales como vectores gammaretrovíricos (véase, por ejemplo, Koste *et al.* (2014) Gene Therapy, 3 de abril de 2014. doi: 10.1038/gt.2014.25; Carlens *et al.* (2000) Exp Hematol 28(10): 1137-46; Alonso-Camino *et al.* (2013) Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park *et al.*, Trends Biotechnol. 29 de noviembre de 2011 (11): 550-557).

En algunas realizaciones, el vector retrovírico tiene una secuencia de repetición terminal larga (LTR), por ejemplo, un vector retrovírico derivado del virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV), el virus del sarcoma mieloproliferativo (MPSV), el virus de células madre embrionarias murinas (MESV), el virus de células madre murinas (MSCV), el virus formador de focos en el bazo (SFFV) o el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1). La mayoría de los vectores retrovíricos derivan de retrovirus murinos. En algunas realizaciones, los retrovirus incluyen los obtenidos de cualquier fuente de células de aves o mamíferos. Los retrovirus normalmente son anfotrópicos, lo que significa que son capaces de infectar células hospedadoras de varias especies, incluyendo seres humanos. En una realización, el gen que ha de expresarse reemplaza las secuencias retrovíricas gag, pol y/o env. Se han descrito varios sistemas retrovíricos ilustrativos (por ejemplo, en las Pat. de los EE. UU. N.º 5.219.740; 6.207.453; 5.219.740; Miller y Rosman (1989) BioTechniques 7:980-990; Miller, A. D. (1990) Human Gene Therapy 1:5-14; Scarpa *et al.* (1991) Virology 180:849-852; Burns *et al.* (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8033-8037; y Boris-Lawrie y Temin (1993) Cur. Opin. Genet. Develop. 3:102-109.

Se conocen métodos de transducción lentivírica. Se describen métodos de ejemplo en, por ejemplo, Wang *et al.* (2012) J. Immunother. 35(9): 689-701; Cooper *et al.* (2003) Blood. 101:1637-1644; Verhoeyen *et al.* (2009) Methods Mol Biol. 506: 97-114; y Cavalieri *et al.* (2003) Blood. 102(2): 497-505.

En algunos casos descritos en el presente documento, los polinucleótidos recombinantes se transfieren a los linfocitos T a través de electroporación (véase, por ejemplo, Chicaybam *et al.*, (2013) PLoS ONE 8(3): e60298 y Van Tedeloo *et al.* (2000) Gene Therapy 7(16): 1431-1437). En algunos casos descritos en el presente documento, los polinucleótidos recombinantes se transfieren a los linfocitos T a través de transposición (véase, por ejemplo, Manuri *et al.* (2010) Hum Gene Ther 21(4): 427-437; Sharma *et al.* (2013) Molec Ther Nucl Acids 2, e74; y Huang *et al.* (2009) Methods Mol Biol 506: 115-126). Otros métodos de introducción y expresión de material genético en células inmunitarias incluyen la transfección con fosfato de calcio (por ejemplo, como se describe en Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Nueva York. N.Y.), fusión de protoplastos, transfección mediada por liposomas catiónicos; bombardeo de micropartículas facilitado por partículas de wolframio (Johnston, Nature, 346: 776-777 (1990)); y coprecipitación de ADN con fosfato de estroncio (Brash *et al.*, Mol. Cell Biol., 7: 2031-2034 (1987)).

Otros enfoques y vectores para la transferencia de los polinucleótidos que codifican los productos recombinantes son aquellos descritos, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional, N.º de publicación: WO2014055668 y la Patente de los EE. UU. N.º 7.446.190.

Entre los polinucleótidos adicionales, por ejemplo, son genes para la introducción aquellos que mejoran la eficacia de la terapia, tal como promoviendo la viabilidad y/o función de las células transferidas; genes para proporcionar un marcador genético para la selección y/o evaluación de las células, tal como para evaluar la supervivencia o localización *in vivo*; genes para mejorar la seguridad, por ejemplo, haciendo que la célula sea susceptible a la selección negativa *in vivo* como describe Lupton S. D. *et al.*, Mol. and Cell Biol., 11:6 (1991); y Riddell *et al.*, Human Gene Therapy 3:319-338 (1992); véanse también las publicaciones PCT/US91/08442 y PCT/US94/05601 de Lupton *et al.* que describen el uso de genes de fusión seleccionables bifuncionales obtenidos de la fusión de un marcador seleccionable positivo dominante con un marcador seleccionable negativo. Véase, por ejemplo, Riddell *et al.*, la Patente de los EE. UU. N.º 6.040.177, en las columnas 14-17.

En algunas realizaciones, una o más moléculas de unión, incluyendo los CAR, pueden modificarse por ingeniería genética para que se expresen en células o pluralidad de células. En algunas realizaciones, un primer receptor de antígeno quimérico y una segunda molécula de unión, por ejemplo, el receptor recombinante, están codificados por la misma molécula de ácido nucleico o por moléculas separadas. En algunas realizaciones, se modifican por ingeniería moléculas de unión adicionales que han de expresarse en células o en una pluralidad de células.

En algunos casos, el polinucleótido que contiene secuencias de ácido nucleico que codifican el receptor de antígeno quimérico (CAR) de unión a BCMA, contiene una secuencia señal que codifica un péptido señal. En algunas realizaciones, la secuencia señal puede codificar un péptido señal derivado de un polipéptido nativo. En otras realizaciones, la secuencia señal puede codificar un péptido señal heterólogo o no nativo. En algunas realizaciones, el péptido señal de ejemplo no limitante incluye un péptido señal de la cadena kappa de IgG expuesto en la SEQ ID NO: 620, o codificado por la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 619 o 682-685; una cadena alfa GMCSFR expuesta en la SEQ ID NO: 851 y codificada por la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 850; un péptido señal de CD8 alfa expuesto en la SEQ ID NO: 852; o un péptido señal de CD33 expuesto en la SEQ ID NO: 853.

En algunas realizaciones, el vector o construcción puede contener elementos promotores y/o potenciadores o reguladores para regular la expresión del receptor de antígeno quimérico codificado. En algunos ejemplos, el promotor y/o potenciador o elementos reguladores pueden ser promotores, potenciadores y/o elementos reguladores dependientes de la afección. En algunos ejemplos, estos elementos impulsan la expresión del transgén. En algunos ejemplos, el transgén de CAR puede estar unido operativamente a un promotor, tal como un promotor EF1alfa con un potenciador HTLV1 (SEQ ID NO: 635). En algunos ejemplos, el transgén CAR está unido operativamente a un elemento regulador postranscripcional (WPRE) del virus de la hepatitis de la marmota (WHP); SEQ ID NO: 636), ubicado en dirección 3' del transgén.

En algunas realizaciones, el vector o construcción puede contener un único promotor que impulsa la expresión de una o más moléculas de ácido nucleico. En algunas realizaciones, dichas moléculas de ácido nucleico, por ejemplo, transcritos, pueden ser multicistrónicas (bicistrónicas o tricistrónicas, véase por ejemplo, la Patente de los EE. UU. N.º 6.060.273). Por ejemplo, en algunas realizaciones, pueden modificarse por ingeniería unidades de transcripción como una unidad bicistrónica que contenga un IRES (sitio interno de entrada al ribosoma), lo que permite la coexpresión de productos génicos (por ejemplo que codifican un primer y un segundo receptor quimérico) mediante un mensaje de un único promotor. Como alternativa, en algunos casos, un único promotor puede dirigir la expresión de un ARN que contenga, en un único marco de lectura abierto (ORF), dos o tres genes (por ejemplo, que codifican unas moléculas de unión primera y segunda) separados entre sí por secuencias que codifican un péptido de autoescisión (por ejemplo, secuencias de 2A) o un sitio de reconocimiento de proteasas (por ejemplo, furina). Por tanto, el ORF codifica un único polipéptido, que, ya sea durante (en el caso de T2A) o después de la traducción, se escinde en las proteínas individuales. En algunos casos, el péptido, tal como T2A, puede hacer que el ribosoma se salte (salto ribosómico) la síntesis de un enlace peptídico en el extremo C de un elemento 2A, lo que conduce a la separación entre el extremo de la secuencia 2A y el siguiente péptido posterior (véase, por ejemplo, de Felipe. Genetic Vaccines and Ther. 2:13 (2004) y de Felipe *et al.* Traffic 5:616-626 (2004)). Se conocen muchos elementos de 2A. Son ejemplos de secuencias 2A que pueden usarse en los métodos y polinucleótidos divulgados en el presente documento, sin limitación, las secuencias 2A del virus de la fiebre aftosa (F2A, por ejemplo, la SEQ ID NO: 659 o 660), el virus A de la rinitis equina (E2A, por ejemplo, SEQ ID NO: 657 o 658), el virus *Thosea asigna* (T2A, por ejemplo, SEQ ID NO: 631, 653 o 654) y el tescovirus-1 porcino (P2A, por ejemplo, SEQ ID NO: 655 o 656) como se describe en la Publicación de Patente de los EE. UU. N.º 20070116690. En algunas realizaciones, el uno o más promotores diferentes o separados impulsan la expresión de una o más moléculas de ácido nucleico que codifican el uno o más receptores de antígenos quiméricos.

Cualquiera de los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, pueden estar codificados por polinucleótidos que contienen una o más moléculas de ácido nucleico que codifican los receptores, en cualesquier combinaciones o disposiciones. Por ejemplo, uno, dos, tres o más polinucleótidos pueden codificar uno, dos, tres o más receptores o dominios diferentes. En algunas realizaciones, un vector o construcción contiene moléculas de ácido nucleico que

codifican uno o más receptores de antígenos quiméricos de unión, y un vector o construcción separado contiene moléculas de ácido nucleico que codifican una molécula de unión adicional, por ejemplo, anticuerpo y/o receptor recombinante. Cada una de las moléculas de ácido nucleico puede codificar también uno o más marcadores, tales como un marcador de superficie, por ejemplo, EGFR truncado (tEGFR).

También se divulgan composiciones que contienen una o más de las moléculas de ácido nucleico, vectores o construcciones, tal como cualesquiera descritos anteriormente. En algunas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico, vectores, construcciones o composiciones pueden usarse para modificar por ingeniería células, tales como linfocitos T, expresar cualquiera de los receptores de antígenos quiméricos.

B. Preparación de células para modificación por ingeniería

En algunos casos descritos en el presente documento, la preparación de las células modificadas por ingeniería incluye una o más etapas de cultivo y/o preparación. Las células para la introducción del CAR pueden aislarse de una muestra, tal como una muestra biológica, por ejemplo, una obtenida o derivada de un sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto del que se aísla la célula es uno que tiene la enfermedad o afección o que necesita una terapia celular o al que se le administrará la terapia celular. El sujeto en algunas realizaciones es un ser humano que necesita una intervención terapéutica particular, tal como la terapia celular adoptiva para la que se aíslan células, se procesan y/o se modifican por ingeniería.

En consecuencia, las células en algunas realizaciones son células primarias, por ejemplo, células primarias humanas. Las muestras incluyen tejido, fluido y otras muestras tomadas directamente del sujeto, así como muestras resultantes de una o más etapas de procesamiento, tales como separación, centrifugación, modificación por ingeniería genética (por ejemplo, transducción con vector vírico), lavado y/o incubación. La muestra biológica puede ser una muestra obtenida directamente de una fuente biológica o una muestra que se procesa. Las muestras biológicas incluyen, pero sin limitación, fluidos corporales, tales como sangre, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, orina y sudor, muestras de tejidos y órganos, incluyendo muestras procesadas obtenidas de los mismos.

En algunas realizaciones, la muestra de la que se obtienen o aíslan las células es sangre o una muestra derivada de sangre, o es o deriva de un producto de aféresis o leucocitaféresis. Las muestras de ejemplo incluyen sangre completa, células mononucleares de sangre periférica (PBMC), leucocitos, médula ósea, timo, biopsia de tejido, tumor, leucemia, linfoma, ganglio linfático, tejido linfoide asociado al intestino, tejido linfoide asociado a mucosas, bazo, otros tejidos linfoides, hígado, pulmón, estómago, intestino, colon, riñón, páncreas, mama, hueso, próstata, cuello uterino, testículos, ovarios, amígdala u otro órgano, y/o células derivadas de los mismos. Las muestras incluyen, en el contexto de la terapia celular, por ejemplo, terapia celular adoptiva, muestras de fuentes autólogas y alógenas.

En algunas realizaciones, las células se obtienen de estirpes celulares, por ejemplo, estirpes de linfocitos T. Las células en algunas realizaciones se obtienen de una fuente xenógena, por ejemplo, de ratón, rata, primate no humano o cerdo.

En algunas realizaciones, el aislamiento de las células incluye una o más etapas de preparación y/o separación de células no basada en afinidad. En algunos ejemplos, las células se lavan, se centrifugan y/o se incuban en presencia de uno o más reactivos, por ejemplo, para eliminar componentes no deseados, enriquecer en componentes deseados, causar la lisis celular o eliminar las células sensibles a reactivos particulares. En algunos ejemplos, las células se separan basándose en una o más propiedades, tales como densidad, propiedades adherentes, tamaño, sensibilidad y/o resistencia a componentes particulares.

En algunos ejemplos, se obtienen células de la sangre en circulación de un sujeto, por ejemplo, mediante aféresis o leucocitaféresis. Las muestras, en algunas realizaciones, contienen linfocitos, incluyendo linfocitos T, monocitos, granulocitos, linfocitos B, otros glóbulos blancos nucleados, glóbulos rojos y/o plaquetas, y en algunos realizaciones, contienen células distintas de glóbulos rojos y plaquetas.

En algunas realizaciones, las células sanguíneas recogidas del sujeto se lavan, por ejemplo, para eliminar la fracción de plasma y colocar las células en un tampón o medio adecuado para las etapas de procesamiento posteriores. En algunas ocasiones, las células se lavan con solución salina tamponada con fosfato (PBS). En algunas realizaciones, la solución de lavado carece de calcio y/o magnesio y/o muchos o todos los cationes divalentes. En algunas realizaciones, una etapa de lavado se realiza en una centrífuga de "flujo continuo" semiautomática (por ejemplo, el procesador de células Cobe 2991, Baxter) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En algunas realizaciones, una etapa de lavado se logra mediante filtración de flujo tangencial (TFF) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En algunas realizaciones, después del lavado, las células se resuspenden en una diversidad de tampones biocompatibles, tales como, por ejemplo, PBS sin Ca^{++}/Mg^{++}. En determinadas realizaciones, los componentes de una muestra de células sanguíneas se eliminan y las células se resuspenden directamente en el medio de cultivo.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen métodos de separación celular basados en densidad, tales como la preparación de glóbulos blancos a partir de sangre periférica mediante la lisis de los glóbulos rojos y la centrifugación a través de un gradiente de Percoll o Ficoll.

En algunas realizaciones, los métodos de aislamiento incluyen la separación de tipos celulares diferentes basándose en la expresión o presencia en la célula de una o más moléculas específicas, tales como marcadores de superficie, por ejemplo, proteínas de superficie, marcadores intracelulares o ácido nucleico. En algunas realizaciones, puede usarse cualquier método conocido para la separación basado en dichos marcadores. En algunas realizaciones, la separación es una separación basada en afinidad o inmunoafinidad. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el aislamiento incluye la separación de células y poblaciones celulares basándose en la expresión de las células o el nivel de expresión de uno o más marcadores, normalmente marcadores de superficie celular, por ejemplo, mediante incubación con un anticuerpo o compañero de unión que se une específicamente a dichos marcadores, seguido generalmente de etapas de lavado y separación de las células que se han unido al anticuerpo o al compañero de unión, de aquellas células que no se han unido al anticuerpo o al compañero de unión.

Dichas etapas de separación pueden basarse en selección positiva, en la que las células que se han unido a los reactivos quedan retenidas para su uso posterior, y/o en selección negativa, en la que las células que no se han unido al anticuerpo o compañero de unión se conservan. En algunos ejemplos, ambas fracciones se conservan para su uso posterior. En algunas realizaciones, la selección negativa puede ser particularmente útil cuando no hay ningún anticuerpo disponible que identifique específicamente un tipo celular en una población heterogénea, de manera que la separación se realiza mejor basándose en marcadores expresados por células distintas de la población deseada.

No es necesario que la separación dé como resultado un enriquecimiento del 100 % o la eliminación de una población celular particular o células que expresan un marcador particular. Por ejemplo, la selección positiva o el enriquecimiento de células de un tipo particular, tales como las que expresan un marcador, se refieren al aumento del número o porcentaje de dichas células, pero no necesariamente da como resultado una ausencia total de células que no expresan el marcador. Análogamente, la selección negativa, la eliminación o el agotamiento de células de un tipo particular, tales como las que expresan un marcador, se refieren a disminuir el número o porcentaje de dichas células, pero no tiene por qué como resultado a una eliminación completa de todas esas células.

En algunos ejemplos, se realizan múltiples rondas de etapas de separación, donde la fracción seleccionada positiva o negativamente de una etapa se somete a otra etapa de separación, tal como una selección posterior positiva o negativa. En algunos ejemplos, una única etapa de separación puede agotar células que expresan múltiples marcadores simultáneamente, tal como incubando células con una pluralidad de anticuerpos o compañeros de unión, cada uno específico para un marcador dirigido a la selección negativa. Análogamente, pueden seleccionarse simultáneamente múltiples tipos celulares positivamente incubando células con una pluralidad de anticuerpos o compañeros de unión expresados en los diversos tipos celulares.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, subpoblaciones específicas de linfocitos T, tal como células positivas o que expresan altos niveles de uno o más marcadores de superficie, por ejemplo, CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+ y/o CD45RO+, se aíslan mediante técnicas de selección positiva o negativa.

Por ejemplo, CD3+, los linfocitos T CD28+ pueden seleccionarse positivamente usando perlas magnéticas conjugadas CD3/CD28 (por ejemplo, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander, MACSiBeads™, etc.).

En algunas realizaciones, el aislamiento se realiza mediante el enriquecimiento de una población celular particular mediante selección positiva, o el agotamiento de una población celular particular, mediante selección negativa. En algunas realizaciones, la selección positiva o negativa se logra incubando células con uno o más anticuerpos u otro agente de unión que se une específicamente a uno o más marcadores de superficie expresados o expresados (marcador^{+}) a un nivel relativamente más alto (marcador^{alto}) en las células seleccionadas positiva o negativamente, respectivamente.

En algunas realizaciones, los linfocitos T se separan de una muestra de PBMC mediante la selección negativa de marcadores expresados en células no T, tales como linfocitos B, monocitos u otros glóbulos blancos, tales como CD14. En algunas realizaciones, las etapas de selección CD4+ y/o CD8+ se usan para separar los linfocitos T auxiliares CD4+ y citotóxicos CD8+ de una composición, de manera que a partir de una composición de PBMC como la obtenida mediante leucocitaféresis. Dichas poblaciones CD4+ y CD8+, en algunas realizaciones, pueden clasificarse a su vez en subpoblaciones mediante la selección positiva o negativa de los marcadores expresados o expresados en un grado relativamente mayor en una o más subpoblaciones de linfocitos T sin exposición previa, de memoria, y/o efectores. En algunas realizaciones, las células CD4+ y CD8+ se mezclan a la relación deseada

En algunas realizaciones, las células CD8+ se enriquecen o se agotan adicionalmente en células madre sin exposición previa, de memoria central, de memoria efectora y/o de memoria central, tal como mediante selección positiva o negativa basándose en antígenos de superficie asociados a la subpoblación respectiva. En algunas realizaciones, el enriquecimiento en linfocitos T de memoria central (T_{CM}) se realiza para aumentar la eficacia, tal como para mejorar la supervivencia a largo plazo, la expansión y/o el injerto después de la administración, lo que en algunas realizaciones es particularmente sólido en dichas subpoblaciones. Véase Terakura *et al.* (2012) Blood.1:72-82; Wang *et al.* (2012) J Immunother. 35(9):689-701. En algunas ocasiones, combinar linfocitos TCD8+ y linfocitos T CD4+ enriquecidos en T_{CM} potencia adicionalmente su eficacia.

En las realizaciones, los linfocitos T de memoria están presentes en los subconjuntos CD62L+ y CD62L- de linfocitos CD8+ de sangre periférica. Las PBMC pueden enriquecerse o agotarse en las fracciones CD62L-CD8+ y/o CD62L+CD8+, tal como usando anticuerpos anti-CD8 y anti-CD62L.

En algunas realizaciones, el enriquecimiento en linfocitos T de memoria central (T_{CM}) se basa en una expresión en superficie alta o positiva de CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 y/o CD 127; en algunas realizaciones, se basa en la selección negativa de células que expresan o expresan mucho CD45RA y/o granzima B. En algunas realizaciones, el aislamiento de una población CD8+ enriquecida en linfocitos T_{CM} se realiza mediante el agotamiento de las células que expresan CD4, CD14, CD45RA y la selección positiva o el enriquecimiento en células que expresan CD62L. En una realización, el enriquecimiento en linfocitos T de memoria central (T_{CM}) se realiza a partir de una fracción negativa de células seleccionadas basándose en la expresión de CD4, que se somete a una selección negativa basada en la expresión de CD14 y CD45RA, y una selección positiva basada en CD62L. Dichas selecciones en algunos aspectos se realizan simultáneamente y en otros aspectos se realizan de forma secuencial, en cualquier orden. En algunas realizaciones, la misma etapa de selección basada en la expresión de CD4 utilizada en la preparación de la población o subpoblación de células CD8+, también se usa para generar la población o subpoblación de células CD4+, de manera que tanto las fracciones positivas como las negativas de la separación basada en CD4 se conserven y usen en las etapas posteriores de los métodos, opcionalmente después de una o más etapas de selección positiva o negativa adicionales.

En un ejemplo particular, una muestra de PBMC u otra muestra de glóbulos blancos se somete a selección de linfocitos CD4+, donde se conservan las fracciones tanto negativas como positivas. Después, la fracción negativa se somete a una selección negativa basada en la expresión de CD14 y CD45RA, y a una selección positiva basada en un marcador característico de linfocitos T de memoria central, tal como CD62L o CCR7, donde las selecciones positivas y negativas se realizan en cualquier orden.

Los linfocitos auxiliares T CD4+ se clasifican en células sin exposición previa, de memoria central y efectoras mediante la identificación de poblaciones celulares que tienen antígenos de superficie celular. Los linfocitos CD4+ se pueden obtener mediante métodos convencionales. En algunas realizaciones, los linfocitos T CD4+ sin exposición previa son linfocitos T CD45RO-, CD45RA+, CD62L+, CD4+. En algunas realizaciones, las células CD4+ de memoria central son CD62L+ y CD45RO+. En algunas ocasiones, las células CD4+ efectoras son CD62L- y CD45RO-.

En un ejemplo, para el enriquecimiento de células CD4+ por selección negativa, un cóctel de anticuerpos monoclonales normalmente incluye anticuerpos contra CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR y CD8. En algunas ocasiones, el anticuerpo o compañero de unión se une a un soporte sólido o matriz, tal como una perla magnética o una perla paramagnética, para permitir la separación de células para la selección positiva y/o negativa. Por ejemplo, en algunas ocasiones, las células y las poblaciones de células se separan o aíslan mediante técnicas de separación inmunomagnéticas (o magnéticas por afinidad) (revisadas en Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior *In vitro* and *In vivo*, págs. 17-25 Editado por: S. A. Brooks y U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

En algunas realizaciones, la muestra o composición de células que ha de separarse se incuba con material pequeño, magnetizable o magnéticamente sensible, tal como partículas o micropartículas magnéticamente sensibles, tales como perlas paramagnéticas (por ejemplo, tales como perlas Dynabeads® o MACS®). El material magnéticamente sensible, por ejemplo, partícula, generalmente está unido directa o indirectamente a un compañero de unión, por ejemplo, un anticuerpo, que se une específicamente a una molécula, por ejemplo, un marcador de superficie, presente en la célula, células o población de células que se desean separar, por ejemplo, que se desea seleccionar negativa o positivamente.

En algunas realizaciones, la partícula o perla magnética comprende un material magnéticamente sensible unido a un compañero de unión específico, tal como un anticuerpo u otro compañero de unión. Existen muchos materiales magnéticamente sensibles bien conocidos que se usan en métodos de separación magnética. Las partículas magnéticas adecuadas incluyen las descritas en Molday, Patente de los EE. UU. N.º 4.452.773 y en la Memoria descriptiva de patente europea EP 452342 B. Las partículas de tamaño coloidal, tales como las descritas en la Patente de los EE. UU. N.º 4.795.698 de Owen y Liberti *et al.*, Pat. de los EE. UU. N.º 5.200.084, son otros ejemplos.

La incubación generalmente se realiza en condiciones en las que los anticuerpos o compañeros de unión, o moléculas, tales como anticuerpos secundarios u otros reactivos, que se unen específicamente a dichos anticuerpos o compañeros de unión, que están adheridos a la partícula o perla magnética, específicamente se unen a las moléculas de superficie celular si están presentes en las células dentro de la muestra.

En algunas realizaciones, la muestra se coloca en un campo magnético, y las células que tienen partículas magnéticamente sensibles o magnetizables adheridas a las mismas serán atraídas al imán y se separarán de las células sin marcar. Para la selección positiva, quedan retenidas células que son atraídas por el imán; para la selección negativa, quedan retenidas las células no atraídas (células sin marcar). En algunas realizaciones, se realiza una combinación de selección positiva y negativa durante la misma etapa de selección, donde quedan retenidas las fracciones positivas y negativas y se procesan adicionalmente o se someten a etapas de separación adicionales.

En determinadas realizaciones, las partículas magnéticamente sensibles están recubiertas de anticuerpos primarios u otros compañeros de unión, anticuerpos secundarios, lectinas, enzimas o estreptavidina. En determinadas realizaciones, las partículas magnéticas se unen a las células a través de un recubrimiento de anticuerpos primarios específicos para uno o más marcadores. En determinadas realizaciones, las células, en lugar de las perlas, se marcan con un anticuerpo primario o un compañero de unión, y después se añaden partículas magnéticas recubiertas con un anticuerpo secundario específico del tipo celular u otro compañero de unión (por ejemplo, estreptavidina). En determinadas realizaciones, las partículas magnéticas recubiertas con estreptavidina se usan junto con anticuerpos primarios o secundarios biotinilados.

En algunas realizaciones, las partículas magnéticamente sensibles se dejan unidas a las células que han de incubarse posteriormente, se cultivarán y/o se modifican por ingeniería; en algunas realizaciones, las partículas se dejan unidas a las células para la administración a un paciente. En algunas realizaciones, las partículas magnetizables o magnéticamente sensibles se eliminan de las células. Se conocen métodos para eliminar partículas magnetizables de las células e incluyen, por ejemplo, el uso de anticuerpos no marcados competidores, partículas magnetizables o anticuerpos conjugados con enlazadores escindibles, etc. En algunas ocasiones, las partículas magnetizables son biodegradables.

En algunas realizaciones, la selección basada en afinidad es a través de clasificación de células activadas magnéticamente (MACS®) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Los sistemas de clasificación de células activadas magnéticamente (MACS®) son capaces de realizar una selección de alta pureza de células que tienen partículas magnetizadas unidas a las mismas. En determinadas realizaciones, los MACS® funcionan en un modo en donde las especies diana y no diana eluyen secuencialmente después de la aplicación del campo magnético externo. Es decir, las células adheridas a las partículas magnetizadas se mantienen en su lugar mientras eluyen las especies no adheridas. Después, tras completar esta primera etapa de elución, las especies que quedaron atrapadas en el campo magnético y se impidió que eluyesen, se liberan de alguna manera, de manera que puedan eluir y recuperarse. En determinadas realizaciones, las células no diana se marcan y la población heterogénea de células se agota de las mismas.

En determinadas realizaciones, el aislamiento o separación se realiza usando un sistema, dispositivo o aparato que realiza una o más de las etapas de aislamiento, preparación celular, separación, procesamiento, incubación, cultivo y/o formulación de los métodos. En algunas realizaciones, el sistema se usa para realizar cada una de estas etapas en un entorno cerrado o aséptico, por ejemplo, para minimizar el error, la manipulación y/o la contaminación por el usuario. En un ejemplo, el sistema es un sistema como se describe en la Solicitud de Patente Internacional, Número de publicación WO2009/072003 o US 20110003380 A1.

En algunas realizaciones, el sistema o aparato realiza una o más, por ejemplo, la totalidad de las etapas de aislamiento, procesamiento, ingeniería y formulación en un sistema integrado o autónomo, y/o de forma automatizada o programable. En algunas realizaciones, el sistema o aparato incluye un ordenador y/o un programa informático en comunicación con el sistema o aparato, que permite a un usuario programar, control, evaluar el resultado de, y/o ajustar, diversos aspectos de las etapas de procesamiento, aislamiento, modificación por ingeniería y formulación.

En algunas realizaciones, la separación y/u otras etapas se realizan usando el sistema CliniMACS® (Miltenyi Biotic), por ejemplo, para la separación automática de células a nivel clínico en un sistema cerrado y aséptico. Los componentes pueden incluir un microordenador integrado, una unidad de separación magnética, una bomba peristáltica y diversas válvulas de pinza. El ordenador integrado en algunas realizaciones controla todos los componentes del equipo y dirige el sistema para que realice procedimientos repetidos en una secuencia normalizada. La unidad de separación magnética en algunas realizaciones incluye un imán permanente móvil y un soporte para la columna de selección. La bomba peristáltica controla el caudal en todo el conjunto de tuberías y, junto con las válvulas de pinza, garantiza el flujo controlado de tampón a través del sistema y la suspensión continua de células.

En algunas realizaciones, el sistema CliniMACS® usa partículas magnetizables acopladas a anticuerpos que se suministran en una solución estéril, apirógena. En algunas ocasiones, después del marcaje de las células con partículas magnéticas, las células se lavan para eliminar el exceso de partículas. Después se conecta una bolsa de preparación celular al conjunto de tubos, que a su vez se conecta a una bolsa que contiene tampón y una bolsa de recogida de células. El conjunto de tubos consiste en tubos asépticos pre-ensamblados, incluyendo una precolumna y una columna de separación, y son de un solo uso. Después del inicio del programa de separación, el sistema aplica automáticamente la muestra de células en la columna de separación. Las células marcadas quedan retenidas dentro de la columna, mientras que las células sin marcar se eliminan mediante una serie de etapas de lavado. En algunas realizaciones, las poblaciones de células para su uso con los métodos descritos en el presente documento están sin marcar y no quedan retenidas en la columna. En algunas realizaciones, las poblaciones de células para su uso con los métodos descritos en el presente documento están marcadas y no quedan retenidas en la columna. En algunas realizaciones, las poblaciones de células para su uso con los métodos descritos en el presente documento se eluyen de la columna después de la eliminación del campo magnético y se recogen dentro de la bolsa de recogida de células.

En determinadas realizaciones, las etapas de separación y/u otros se realizan usando el sistema CliniMACS Prodigy® (Miltenyi Biotic. El sistema CliniMACS Prodigy® en algunas realizaciones está equipado con una unidad de

procesamiento de células que permite el lavado y el fraccionamiento automatizados de las células por centrifugación. El sistema CliniMACS Prodigy® también puede incluir una cámara integrada y un programa informático de reconocimiento de imágenes que determina el punto final de fraccionamiento celular óptimo al discernir las capas macroscópicas del producto de la célula de origen. Por ejemplo, la sangre periférica puede separarse automáticamente en eritrocitos, glóbulos blancos y capas de plasma. El sistema CliniMACS Prodigy® también puede incluir una cámara de cultivo celular integrada que cumple protocolos de cultivo celular tales como, por ejemplo, diferenciación y ampliación celulares, carga de antígeno y cultivo celular a largo plazo. Los puertos de entrada pueden permitir la extracción estéril y el reabastecimiento de los medios y las células pueden controlarse usando un microscopio integrado. Véase, por ejemplo, Klebanoff *et al.* (2012) J Immunother. 35(9): 651-660, Terakura *et al.* (2012) Blood.1:72-82 y Wang *et al.* (2012) J Immunother. 35(9):689-701.

En algunas realizaciones, una población celular descrita en el presente documento se recoge y enriquece (o agota) a través de citometría de flujo, en la que las células teñidas para múltiples marcadores de superficie celular se transportan en una corriente fluídica. En algunas realizaciones, una población celular descrita en el presente documento se recoge y enriquece (o agota) a través de clasificación a escala preparativa (FACS). En determinadas realizaciones, una población celular descrita en el presente documento se recoge y enriquece (o agota) mediante el uso de chips de sistemas microelectromecánicos (MEMS) en combinación con un sistema de detección basado en FACS (véase, por ejemplo, el documento WO 2010/033140, Cho *et al.* (2010) Lab Chip 10, 1567-1573; y Godin *et al.* (2008) J Biophoton. 1(5):355-376. En ambos casos, las células pueden marcarse con múltiples marcadores, lo que permite el aislamiento de subconjuntos de linfocitos T bien definidos con alta pureza.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o compañeros de unión están marcados con uno o más marcadores detectables, para facilitar la separación por selección positiva y/o negativa. Por ejemplo, la separación puede basarse en la unión a anticuerpos marcados con fluorescencia. En algunos ejemplos, la separación de células basada en la unión de anticuerpos u otros compañeros de unión específicos para uno o más marcadores de superficie celular se realiza en una corriente fluídica, tal como mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), incluyendo chips de escala preparativa (FACS) y/o sistemas microelectromecánicos (MEMS), por ejemplo, en combinación con un sistema de detección por citometría de flujo. Dichos métodos permiten la selección positiva y negativa basada en múltiples marcadores simultáneamente.

En algunas realizaciones, los métodos de preparación incluyen etapas para congelar, por ejemplo, crioconservar, las células, ya sea antes o después del aislamiento, incubación y/o modificación por ingeniería. En algunas realizaciones, la etapa de congelación y descongelación posterior elimina los granulocitos y, hasta cierto punto, los monocitos, en la población celular. En algunas realizaciones, las células se suspenden en una solución de congelación, por ejemplo, después de una etapa de lavado para eliminar el plasma y las plaquetas. En algunas realizaciones puede usarse cualquiera de las diversas soluciones y parámetros de congelación conocidos. Un ejemplo implica el uso de PBS que contiene un DMSO al 20 % y albúmina sérica humana (HSA, por sus siglas en inglés) al 8 % u otros medios de congelación de células adecuados. Esto después se diluye a 1:1 con medio de manera que la concentración final de DMSO y HSA sea del 10 % y del 4 %, respectivamente. Después, las células se congelan a -80 °C a una velocidad de 1° por minuto y se almacenan en la fase de vapor de un tanque de almacenamiento de nitrógeno líquido.

En algunas realizaciones, los métodos divulgados incluyen el cultivo, la incubación, el cultivo y/o las etapas de ingeniería genética. Por ejemplo, en algunas ocasiones, se divulgan métodos para incubar y/o modificar por ingeniería las poblaciones de células agotadas y las composiciones que inician el cultivo.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, las poblaciones de células se incuban en una composición de inicio de cultivo. La incubación y/o la modificación por genética pueden realizarse en un recipiente de cultivo, tal como una unidad, cámara, pocillo, columna, tubo, conjunto de tubos, válvula, vial, placa de cultivo, bolsa u otro recipiente para el cultivo o cultivar células.

En algunas realizaciones, las células se incuban y/o cultivan antes de o en relación con la modificación por ingeniería genética. Las etapas de incubación pueden incluir cultivar, cultivo, estimulación, activación y/o propagación. En algunas realizaciones, las composiciones o células se incuban en presencia de condiciones estimuladoras o un agente estimulador. Tales condiciones incluyen las diseñadas para inducir la proliferación, expansión, activación y/o supervivencia de células en la población, para imitar la exposición al antígeno y/o para cebar las células para la modificación por ingeniería genética, tal como para la introducción de un receptor de antígeno quimérico.

Las condiciones pueden incluir uno o más de medios particulares, temperatura, contenido de oxígeno, contenido de dióxido de carbono, agentes de tiempo, por ejemplo, nutrientes, aminoácidos, antibióticos, iones y/o factores estimuladores, tales como citocinas, quimiocinas, antígenos, compañeros de unión, proteínas de fusión, receptores solubles recombinantes y cualquier otro agente diseñado para activar las células.

En algunas realizaciones, las condiciones o agentes estimuladores incluyen uno o más agentes, por ejemplo, un ligando, que es capaz de estimular o activar un dominio de señalización intracelular de un complejo de TCR. En algunas realizaciones, el agente activa o inicia la cascada de señalización intracelular de TCR/CD3 en un linfocito T. Dichos agentes pueden incluir anticuerpos, tales como los específicos para un TCR, por ejemplo, anti-CD3. En algunas

realizaciones, las condiciones estimuladores incluyen uno o más agentes, por ejemplo, un ligando, capaz de estimular a un receptor coestimulador, por ejemplo, anti-CD28. En algunas realizaciones, dichos agentes y/o ligandos pueden estar unidos a un soporte sólido tal como una perla y/o una o más citocinas. Opcionalmente, el método de expansión puede comprender además la etapa de añadir anticuerpo anti-CD3 y/o anti CD28 al medio de cultivo (por ejemplo, a una concentración de al menos aproximadamente 0,5 ng/ml). En algunas ocasiones, los agentes estimuladores incluyen IL-2, IL-15 y/o IL-7. En algunas realizaciones, la concentración de IL-2 de al menos aproximadamente 10 unidades/ml.

En algunas realizaciones, la incubación se realiza de acuerdo con técnicas tales como las descritas en la Patente de los EE. UU. N.º 6.040.177 de Riddell *et al.*, Klebanoff *et al.* (2012) J Immunother. 35(9): 651-660, Terakura *et al.* (2012) Blood. 1:72-82 y/o Wang *et al.* (2012) J Immunother. 35(9):689-701.

En algunas realizaciones, los linfocitos T se expanden añadiendo a la composición de inicio del cultivo células alimentadoras, tales como las células mononucleares de sangre periférica que no se dividen (PBMC), (por ejemplo, de manera que la población de células resultante contenga al menos aproximadamente 5, 10, 20 o 40 o más células alimentadoras PBMC por cada linfocito T en la población inicial que se ha de expandirse); e incubar el cultivo (por ejemplo, durante un tiempo suficiente para expandir el número de linfocitos T). En algunas realizaciones, las células alimentadoras que no se dividen pueden comprender células alimentadoras de PBMC irradiadas con rayos gamma. En algunas realizaciones, las PBMC se irradian con rayos gamma en el intervalo de aproximadamente 3000 a 3600 rads para evitar la división celular. En algunas realizaciones, las células alimentadoras se añaden al medio de cultivo antes de la adición de las poblaciones de linfocitos T.

En algunas realizaciones, las condiciones estimuladoras incluyen temperatura adecuada para el crecimiento de linfocitos T humanos, por ejemplo, al menos aproximadamente 25 grados Celsius, generalmente al menos aproximadamente 30 grados y generalmente a 37 grados Celsius, o aproximadamente. Opcionalmente, la incubación puede comprender además añadir células linfoblastoides (LCL) transformadas con EBV que no se dividen como células alimentadoras. Las LCL pueden irradiarse con rayos gamma en el intervalo de aproximadamente 6000 a 10.000 rads. Las células alimentadoras de LCL en algunas realizaciones se proporcionan en cualquier cantidad adecuada, tal como una relación de células alimentadoras de LCL a linfocitos T iniciales de al menos aproximadamente 10:1.

En las realizaciones, los linfocitos T específicos de antígeno, tales como linfocitos T CD4+ y/o CD8+ específicos de antígeno, se obtienen estimulando con antígeno linfocitos T sin exposición previa o específicos de antígeno. Por ejemplo, pueden generarse estirpes o clones de linfocitos T específicos de antígeno para antígenos de citomegalovirus aislando linfocitos T de sujetos infectados y estimulando las células *in vitro* con el mismo antígeno.

C. Células modificadas por ingeniería, vectores y composiciones para multidireccionamiento

También se divulgan células tales como células modificadas por ingeniería que pueden unirse y/o dirigirse a múltiples antígenos. En algunas realizaciones, la selectividad y la especificidad mejoradas se consiguen mediante estrategias dirigidas a múltiples antígenos. Estas estrategias generalmente implican múltiples dominios de unión a antígenos, que normalmente están presentes en distintos receptores de antígenos quiméricos modificados por ingeniería genética y se unen específicamente a distintos antígenos. En algunas realizaciones, las células se modifican por ingeniería con la capacidad de unirse a más de un antígeno. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las células se modifican por ingeniería para expresar receptores de antígenos quiméricos multiespecíficos. En algunas realizaciones, las células expresan múltiples receptores de antígenos quiméricos, cada uno de los cuales puede dirigirse a un antígeno o a múltiples antígenos, por ejemplo, un receptor que se dirige a BCMA, tal como cualquiera descrito en el presente documento, y otro receptor que se dirige a otro antígeno, por ejemplo, un antígeno tumoral. En algunas realizaciones, en la célula se introduce una pluralidad de receptores de antígenos quiméricos modificados por ingeniería genética, que se unen específicamente a diferentes antígenos, cada uno de ellos expresado en o sobre la enfermedad o afección a la que se dirige con las células o tejidos o células de la misma. En algunas realizaciones, dichas características pueden abordar o reducir la probabilidad de efectos inespecíficos o aumentar la eficacia. Por ejemplo, cuando un único antígeno expresado en una enfermedad o afección se expresa también en células normales o no enfermas, dichos enfoques multidireccionamiento pueden proporcionar selectividad para los tipos celulares deseados al requerir la unión a través de múltiples receptores de antígenos quiméricos para activar la célula o inducir una función efectora particular. En algunas realizaciones, una pluralidad de células puede modificarse por ingeniería para que expresen uno o más receptores de antígenos quiméricos diferentes, cada uno de los cuales puede dirigirse a un antígeno o a múltiples antígenos.

También se divulgan células multiespecíficas que contienen el receptor de antígeno quimérico anti-BCMA y una proteína de superficie celular adicional, tal como un receptor quimérico adicional, que se une a un antígeno diferente o un epítopo diferente en BCMA. En algunas realizaciones, se divulgan composiciones de células que expresan receptores de antígenos quiméricos, en donde uno o más de los receptores se unen y/o se dirigen a BCMA. En algunas realizaciones, los receptores de antígenos quiméricos de unión multiespecífica se dirigen a uno o más epítopos diferentes de BCMA.

En algunas realizaciones, se divulgan composición de células, en donde cada tipo de célula expresa uno o más receptores de antígenos quiméricos. En algunos casos descritos en el presente documento, la célula comprende (por ejemplo, se ha transformado con) uno o más vectores que comprenden uno o más ácidos nucleicos que codifican uno o más una secuencias de aminoácidos que comprenden uno o más anticuerpos y/o porciones de los mismos, por ejemplo, fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En algunas realizaciones, se divulgan una o más de dichas células. En algunas realizaciones, se divulga una composición que contiene una o más de dichas células. En algunos casos descritos en el presente documento, una o más células pueden expresar anticuerpos diferentes o el mismo anticuerpo. En algunos casos descritos en el presente documento, cada una de las células expresa uno o más anticuerpos, tales como más de un anticuerpo. En algunas realizaciones, cada una de las células expresa un CAR multiespecífico.

En algunas realizaciones, las células incluyen estrategias de multidireccionamiento que se dirigen a BCMA y a un antígeno secundario o adicional asociado a una enfermedad o afección particular. En algunas realizaciones, el segundo antígeno o antígeno adicional está dirigido por una molécula de unión multiespecífica y/o múltiples moléculas de unión y/o una pluralidad de células, por ejemplo, una o más células, cada una de ellas modificada por ingeniería para expresar uno o más receptores recombinantes. En algunas realizaciones, un receptor recombinante dirigido a un segundo antígeno o antígeno adicional se expresa en la misma célula que una molécula de unión a BCMA, o en una célula diferente.

En algunas realizaciones, entre los segundos antígenos o antígenos adicionales para estrategias de multidireccionamiento se incluyen aquellos en los que al menos uno de los antígenos es un antígeno tumoral universal, o un miembro de la familia del mismo. En algunas realizaciones, el segundo antígeno o antígeno adicional es un antígeno expresado en un tumor. En algunas realizaciones, los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA divulgados en el presente documento se dirigen a un antígeno del mismo tipo de tumor que el segundo antígeno o antígeno adicional. En algunas realizaciones, el segundo antígeno o antígeno adicional puede ser también un antígeno tumoral universal o puede ser un antígeno tumoral específico de un tipo de tumor. En algunas realizaciones, la célula comprende además un receptor de antígeno modificado por ingeniería genética adicional que reconoce un segundo antígeno o antígeno adicional expresado en una enfermedad o afección que ha de tratarse e induce una señal estimuladora o activadora.

Los antígenos de ejemplo incluyen CD4, CD5, CD8, CD14, CD15, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD33, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD46, CD52, CD54, CD74, CD80, CD126, CD138, B7, MUC-1, Ia, HM1.24, HLA-DR, tenascina, un factor de angiogénesis, VEGF, PIGF, Fibronectina ED-B, un oncogén, un producto oncogénico, CD66a-d, antígenos de necrosis, Ii, IL-2, T101, TAC, IL-6, ROR1, TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), tEGFR, Her2, L1-CAM, mesotelina, CEA, antígeno de superficie de la hepatitis B, receptor anti-folato, CD24, CD30, CD44, EGFR, EGP-2, EGP-4, EPHa2, ErbB2, ErbB3, ErbB4, dímeros erbB, EGFR vIII, FBP, FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, receptor acoplado a proteína G clase C grupo 5 miembro D (GPRC5D), HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, kdr, cadena ligera kappa, Lewis Y, molécula L1 de adhesión celular (L1-CAM), antígeno asociado a melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, antígeno preferentemente expresado del melanoma (PRAME), survivina, EGP2, EGP40, TAG72, B7-H6, receptor a2 de IL-13 (IL-13Ra2), CA9, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor alfa de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrina, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, AchR fetal, ligandos de NKG2D, antígeno dual, un antígeno asociado a un marcador universal, un antígeno de cáncer de testículo, MUC1, MUC16, NY-ESO-1, MART-1, gp100, antígeno oncofetal, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno específico de próstata, PSMA, Her2/neu, receptor de estrógenos, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, tumor de Wilms 1 (WT-1), una ciclina, ciclina A2, CCL-1, hTERT, MDM2, CYP1B, WT1, livina, AFP, p53, ciclina (D1), CS-1, BCMA, BAFF-R, TACI, CD56, TIM-3, CD123, molécula L1 de adhesión celular, MAGE-A1, MAGE A3, una ciclina, tal como ciclina A1 (CCNA1) y/o un antígeno específico de patógeno, moléculas biotiniladas, moléculas expresadas por el VIH, VHC, VHB y/u otros patógenos, y/o, en algunas realizaciones, neoepítopos o neoantígenos de los mismos. En algunas realizaciones, el antígeno se asociado a o es un marcador universal.

En algunas realizaciones, la pluralidad de antígenos, por ejemplo, el primer antígeno, por ejemplo, BCMA, y los antígenos segundo o adicional, se expresan en la célula, en el tejido o en enfermedad o afección objetivo, tal como en la célula cancerosa. En algunas realizaciones, la célula, el tejido, la enfermedad o afección es mieloma múltiple o una célula de mieloma múltiple. Uno o más de la pluralidad de antígenos generalmente también se expresa en una célula a la que no se desea dirigir la terapia celular, tal como una célula o tejido normal o no enfermo, y/o las propias células modificadas por ingeniería. En dichas realizaciones, al requerir el ligamiento de múltiples receptores para lograr una respuesta de la célula, se consigue especificidad y/o eficacia.

En algunas realizaciones, el antígeno, por ejemplo, el segundo antígeno o antígeno adicional, tal como el antígeno específico de la enfermedad y/o el antígeno relacionado, se expresa en el mieloma múltiple, tal como el miembro D del grupo 5 de la clase C de receptores acoplados a proteína G (GPRC5D), CD38 (ADP ribosa hidrolasa cíclica), CD138 (sindecán-1), sindecán, SYN-1), CS-1 (CS1, subconjunto 1 de CD2, CRACC, SLAMF7, CD319 y 19A24), BAFF-R, TACI y/o FcRH5. Otros antígenos de ejemplo de mieloma múltiple incluyen CD56, TIM-3, CD33, CD123, CD44, CD20, CD40, CD74, CD200, EGFR, microglobulina β2, HM1.24, IGF-1R, IL-6R, TRAIL-R1, y el receptor de activina tipo IIA (ActRIIA). Véase Benson y Byrd, J. Clin. Oncol. (2012) 30(16): 2013-15; Tao y Anderson, Bone Marrow

Research (2011):924058; Chu *et al.*, Leukemia (2013) 28(4):917-27; Garfall *et al.*, Discov Med. (2014) 17(91):37-46. En algunas realizaciones, los antígenos incluyen los presentes en los tumores linfoides, mieloma, linfoma asociado al SIDA, y/o linfoproliferaciones post-trasplante, tales como CD38. Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígenos dirigidos contra dichos antígenos son conocidos e incluyen, por ejemplo, aquellos descritos en las Patentes de los EE. UU. N.º 8.153.765; 8.603477, 8.008.450; la Pub. de los EE. UU. N.º US20120189622 o US20100260748; y/o la publicación internacional PCT números WO2006099875, WO2009080829 o WO2012092612 o WO2014210064. En algunas realizaciones, dichos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, scFv) están contenidos en CAR multiespecíficos, y/o células multiespecíficas.

En algunas realizaciones, las células y métodos incluyen estrategias de multidireccionamiento, tales como la expresión de dos o más receptores de antígenos quiméricos modificados por ingeniería genética en la célula, reconociendo cada uno un antígeno diferente y normalmente incluyendo, cada uno, un componente de señalización intracelular diferente. Estas estrategias de direccionamiento múltiple se describen, por ejemplo, en la Solicitud de Patente Internacional, N.º de publicación: WO 2014055668 A1 (que describe combinaciones de CAR estimuladores o activadores y coestimuladores, por ejemplo, que se dirigen a dos antígenos diferentes presentes individualmente fuera de la diana, por ejemplo, células normales, pero presentes juntos solo en las células de la enfermedad o afección a tratar) y Fedorov *et al.*, Sci. Transl. Medicine, 5(215) (diciembre de 2013) (que describe células que expresan un CAR estimulador o uno activador y uno inhibidor, tales como aquellas en las que el CAR estimulador o activador se une a un antígeno expresado tanto en células normales como no enfermas y en células de la enfermedad o afección que ha de tratarse, y el CAR inhibidor se une a otro antígeno expresado sólo en las células normales o células que no se desea tratar).

En algunas realizaciones, se divulga una pluralidad de células, cada una modificada por ingeniería para expresar uno o más receptores de antígenos quiméricos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una célula se modifica por ingeniería para expresar un receptor de antígeno quimérico que se une y/o se dirige a BCMA, y otra célula se modifica por ingeniería genética para expresar una molécula de unión que se une y/o se dirige a un antígeno adicional o segundo. En algunas realizaciones, cada una de las células puede expresar un receptor de antígeno quimérico multiespecífico, donde uno o más del antígeno diana es BCMA. En algunas de dichas realizaciones, la pluralidad de células puede administrarse conjuntamente o por separado. En algunas realizaciones, la pluralidad de células se administra simultánea o concomitantemente con las células, por ejemplo, se administra el mismo día y/o secuencialmente con o intermitentemente con, en cualquier orden, otra célula modificada por ingeniería de la pluralidad. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una célula modificada por ingeniería que expresa un CAR de unión a BCMA se administra simultánea con o secuencialmente con, en cualquier orden, otra célula modificada por ingeniería que expresa una molécula de unión que se une a un antígeno diana diferente o a un epítopo diferente en BCMA. En algunas realizaciones, la pluralidad de células puede estar en la misma composición. Las composiciones de ejemplo de las células incluyen composiciones descritas en la Sección II a continuación.

IV. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

También se divulgan composiciones que incluyen los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, y células modificadas por ingeniería, incluyendo composiciones y formulaciones farmacéuticas. Entre dichas composiciones se encuentran aquellas que incluyen células modificadas por ingeniería, tales como una pluralidad de células modificadas por ingeniería, que expresan los CAR anti-BCMA divulgados.

Se divulgan formulaciones farmacéuticas que comprenden receptores de antígenos quiméricos recombinantes de unión a BCMA o células modificadas por ingeniería que expresan dichos receptores, una pluralidad de células modificadas por ingeniería que expresen dichos receptores y/o agentes adicionales para un tratamiento o terapia de combinación. Las composiciones y las formulaciones farmacéuticas generalmente incluyen uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables opcionales. En algunas realizaciones, la composición incluye al menos un agente terapéutico adicional.

La expresión "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que se encuentra en una forma tal que permite que sea eficaz la actividad biológica de un principio activo contenido en la misma y que no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al que se administraría la formulación.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente de una formulación farmacéutica, distinto de un principio activo, que no es tóxico para un sujeto. Un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye, pero sin limitación, un tampón, excipiente, estabilizante o conservante.

En algunas realizaciones, la elección del vehículo se determina en parte por la célula en particular, molécula de unión y/o mediante el método de administración. En consecuencia, existe una diversidad de formulaciones adecuadas. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede contener conservantes. Los conservantes adecuados pueden incluir, por ejemplo, metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sodio y cloruro de benzalconio. En algunas realizaciones, se usa una mezcla de dos o más conservantes. El conservante o las mezclas de los mismos están normalmente presentes en una cantidad de aproximadamente el 0,0001 % a aproximadamente el 2 % en peso de la composición total. Los vehículos se describen, por ejemplo, por Remington's Pharmaceutical Sciences 16a edición, Osol, A. Ed. (1980). Los

vehículos farmacéuticamente aceptables son, en general, no tóxicos para los destinatarios a las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen, pero sin limitación: tampones, tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquil parabenos, tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos, tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos, tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos, tales como polietilenglicol (PEG).

En algunas realizaciones se incluyen agentes tamponantes en las composiciones. Los agentes tamponantes adecuados incluyen, por ejemplo, ácido cítrico, citrato de sodio, ácido fosfórico, fosfato de potasio y diversos otros ácidos y sales. En algunas realizaciones, se usa una mezcla de dos o más agentes tamponantes. El agente tamponante o mezclas del mismo están normalmente presentes en una cantidad de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente el 4 % en peso de la composición total. Se conocen métodos para preparar composiciones farmacéuticas administrables. Se describen métodos de ejemplo con más detalle en, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21ª ed. (1 de mayo de 2005).

Las formulaciones de los anticuerpos pueden incluir formulaciones liofilizadas y soluciones acuosas.

La formulación o composición también puede contener más de un principio activo útil para la indicación, enfermedad o afección particular que se está tratando con las moléculas o células de unión, preferentemente aquellas con actividades complementarias a la molécula o célula de unión, en donde las actividades respectivas no se afecten negativamente entre sí. Dichos principios activos están convenientemente presentes en combinación en cantidades que son eficaces para el fin previsto. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica incluye además otros agentes o fármacos farmacéuticamente activos, tales como agentes quimioterápicos, por ejemplo, asparaginasa, busulfán, carboplatino, cisplatino, daunorrubicina, doxorrubicina, fluorouracilo, gemcitabina, hidroxiurea, metotrexato, paclitaxel, rituximab, vinblastina, vincristina, etc. En algunas realizaciones, las células se administran en forma de una sal, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen las derivadas de ácidos minerales, tales como los ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico, y ácidos orgánicos, tales como los ácidos tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico y arilsulfónico, por ejemplo, ácido p-toluenosulfónico.

Los principios activos pueden atraparse en microcápsulas, en sistemas de suministro de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica se formula en forma de un complejo de inclusión, tal como el complejo de inclusión de ciclodextrina o en forma de un liposoma. Los liposomas pueden servir para dirigir las células hospedadoras (por ejemplo, linfocitos T o linfocitos NK) a un tejido particular. Existen muchos métodos disponibles para preparar liposomas, tales como aquellos descritos en, por ejemplo, Szoka *et al.*, Ann. Rev. Biophys. *Bioeng.*, 9: 467 (1980) y las Patentes de los EE. UU. 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 y 5.019.369.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica puede emplear sistemas de suministro de liberación prolongada, retardada o sostenida, de manera que el suministro de la composición se produzca antes y con tiempo suficiente para provocar la sensibilización de la zona que ha de tratarse. Hay muchos tipos de sistemas de administración de liberación disponibles y conocidos. Dichos sistemas pueden evitar administraciones repetidas de la composición, aumentando de este modo la comodidad para el sujeto y el médico.

La composición farmacéutica en algunas realizaciones contiene las moléculas de unión y/o células en cantidades eficaces para tratar o prevenir la enfermedad o afección, tales como una cantidad terapéuticamente eficaz o profilácticamente eficaz. La eficacia terapéutica o profiláctica en algunas realizaciones se controla mediante la evaluación periódica de los sujetos tratados. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la afección, se repite el tratamiento hasta que se produzca una supresión deseada de los síntomas de enfermedad. Sin embargo, pueden ser útiles y pueden determinarse otras pautas posológicas. La dosis deseada puede suministrarse mediante una única administración en embolada de la composición, mediante múltiples administraciones en embolada de la composición o mediante administración por infusión continua de la composición.

En determinadas realizaciones, en el contexto de las células modificadas por ingeniería genética que contienen el CAR un sujeto recibe el intervalo de aproximadamente un millón a aproximadamente 100.000 millones de células, tal como, por ejemplo, de 1 millón a aproximadamente 50.000 millones de células (por ejemplo, aproximadamente 5 millones de células, aproximadamente 25 millones de células, aproximadamente 500 millones de células, aproximadamente 1.000 millones de células, aproximadamente 5.000 millones de células, aproximadamente 20.000 millones de células, aproximadamente 30.000 millones de células, aproximadamente 40.000 millones de células o un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores anteriores), tal como de aproximadamente 10 millones a

aproximadamente 100.000 millones de células (por ejemplo, aproximadamente 20 millones de células, aproximadamente 30 millones de células, aproximadamente 40 millones de células, aproximadamente 60 millones de células, aproximadamente 70 millones de células, aproximadamente 80 millones de células, aproximadamente 90 millones de células, aproximadamente 10.000 millones de células, aproximadamente 25.000 millones de células, aproximadamente 50.000 millones de células, aproximadamente 75.000 millones de células, aproximadamente 90.000 millones de células, o un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores anteriores) y, en algunos casos, de aproximadamente 100 millones de células a aproximadamente 50.000 millones de células (por ejemplo, aproximadamente 120 millones de células, aproximadamente 250 millones de células, aproximadamente 350 millones de células, aproximadamente 450 millones de células, aproximadamente 650 millones de células, aproximadamente 800 millones de células, aproximadamente 900 millones de células, aproximadamente 3.000 millones de células, aproximadamente 30.000 millones de células, aproximadamente 45.000 millones de células) o cualquier valor entre estos intervalos y/o tal número de células por kilogramo de peso corporal del sujeto. En algunas realizaciones, en el contexto de células modificadas por ingeniería genética que expresan el CAR, una composición puede contener al menos el número de células para la administración de una dosis de terapia celular, tal como aproximadamente o al menos un número de células descritas en el presente documento para su administración, por ejemplo, en la Sección V.A.

Pueden administrarse usando técnicas de administración, formulaciones y/o dispositivos convencionales. Se divulgan formulaciones y dispositivos, tales como jeringuillas y viales, para el almacenamiento y la administración de las composiciones. La administración de las células puede ser autóloga o heteróloga. Por ejemplo, se pueden obtener células o progenitores inmunosensibles de un sujeto y administrarlas al mismo sujeto o a un sujeto diferente compatible. Las células inmunorreactivas derivadas de sangre periférica o su descendencia (por ejemplo, derivadas *in vivo, ex vivo* o *in vitro*) pueden administrarse mediante inyección localizada, incluida la administración por catéter, inyección sistémica, inyección localizada, inyección intravenosa o administración parenteral. Cuando se administra una composición terapéutica (por ejemplo, una composición farmacéutica que contiene una célula inmunosensible modificada por ingeniería), generalmente ésta se formulará en forma de dosis unitaria inyectable (solución, suspensión, emulsión).

Las formulaciones incluyen las que son para administración oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, pulmonar, transdérmica, intramuscular, intranasal, bucal, sublingual o mediante supositorios. En algunas realizaciones, las poblaciones de células se administran por vía parenteral. El término "parenteral", como se usa en el presente documento, incluye la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, rectal, vaginal, intracraneal, intratorácica e intraperitoneal. En algunas realizaciones, el agente o las poblaciones celulares se administran a un sujeto usando suministro sistémico periférico por inyección intravenosa, intraperitoneal o subcutánea.

Las composiciones en algunas realizaciones se proporcionan como preparaciones líquidas estériles, por ejemplo, soluciones acuosas isotónicas, suspensiones, emulsiones, dispersiones o composiciones viscosas, que, en algunas realizaciones, pueden tamponarse a un pH seleccionado. Las preparaciones líquidas son normalmente más fáciles de preparar que los geles, otras composiciones viscosas y las composiciones sólidas. Adicionalmente, las composiciones líquidas son algo más cómodas de administrar, especialmente por inyección. Las composiciones viscosas, por otro lado, se pueden formular dentro del intervalo de viscosidad adecuado para proporcionar períodos de contacto más largos con tejidos específicos. Las composiciones líquidas o viscosas pueden comprender vehículos, que pueden ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido) y mezclas adecuadas de los mismos.

Pueden prepararse soluciones inyectables asépticas incorporando las células en un disolvente, tal como en mezcla con un vehículo, diluyente o excipiente adecuado, tal como agua esterilizada, solución salina fisiológica, glucosa, dextrosa o similares. Las composiciones también se pueden liofilizar. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes, agentes dispersantes o emulsionantes (por ejemplo, metilcelulosa), agentes tamponantes del pH, aditivos gelificantes o potenciadores de la viscosidad, conservantes, agentes aromatizantes, colorantes y similares, dependiendo de la vía de administración y de la preparación deseada. En algunas realizaciones pueden consultarse textos convencionales para preparar preparaciones adecuadas.

Pueden añadirse diversos aditivos que mejoran la estabilidad y la esterilidad de las composiciones, incluyendo conservantes antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y tampones. Puede garantizarse la prevención de la acción de microorganismos mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede realizarse usando agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, matrices que están en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas.

Las formulaciones que han de usarse para la administración *in vivo* generalmente son estériles. La esterilización puede realizarse fácilmente, por ejemplo, mediante filtración a través de membranas de filtración estériles.

También se divulgan composiciones farmacéuticas para terapia de combinación. Cualquiera de los agentes adicionales para la terapia de combinación descritos en el presente documento, tales como los agentes descritos en la Sección III.B, pueden prepararse y administrarse como una o más composiciones farmacéuticas, con el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA y/o células modificadas por ingeniería que expresan dicho receptor de antígeno quimérico descrito en el presente documento. La terapia de combinación puede administrarse en una o más composiciones farmacéuticas, por ejemplo, donde las moléculas de unión, los receptores recombinantes y/o las células están en la misma composición farmacéutica que el agente adicional, o en composiciones farmacéuticas separadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente adicional es una célula modificada por ingeniería adicional, por ejemplo, una célula modificada por ingeniería para expresar un receptor recombinante diferente, y se administra en la misma composición o en una composición separada. En algunas realizaciones, cada una de las composiciones farmacéuticas se formula en una formulación adecuada de acuerdo con la molécula de unión, el receptor recombinante, la célula, por ejemplo, la célula modificada por ingeniería y/o el agente adicional particulares, y la pauta de dosificación y/o el método de suministro particulares.

V. MÉTODOS Y USOS

También se divulgan métodos de uso y usos de los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, células modificadas por ingeniería y composiciones y formulaciones farmacéuticas de los mismos, tal como en el tratamiento de enfermedades, afecciones y trastornos en los que se expresa BCMA, y/o métodos de detección, diagnóstico y pronóstico. Entre dichos métodos, tales como métodos de tratamiento, y usos están aquellos que implican administrar a un sujeto células modificadas por ingeniería, tales como una pluralidad de células modificadas por ingeniería, que expresan los CAR anti-BCMA divulgados. También se divulgan métodos de terapia y/o tratamiento de combinación.

A. Métodos y usos terapéuticos y profilácticos

También se divulgan métodos de administración y usos, tales como los usos terapéuticos y profilácticos, de los CAR anti-BCMA, células modificadas por ingeniería que expresan los CAR, pluralidad de células modificadas por ingeniería que expresan los receptores y/o composiciones que comprenden los mismos. Dichos métodos y usos incluyen métodos y usos terapéuticos, por ejemplo, que implican la administración de los receptores de antígenos quiméricos, células modificadas por ingeniería o composiciones que contienen los mismos, a un sujeto que tiene una enfermedad, afección o trastorno asociado a BCMA tal como una enfermedad, afección o trastorno asociado a la expresión de BCMA, y/o en el que las células o tejidos expresan, por ejemplo, expresan de manera específica, BCMA. En algunas realizaciones, la molécula, célula y/o composición se administra en una cantidad eficaz para efectuar el tratamiento de la enfermedad o trastorno. En el presente documento se divulgan usos de los CAR y células modificadas por ingeniería en dichos métodos y tratamientos, y en la preparación de un medicamento con el fin de realizar dichos métodos terapéuticos. En algunas realizaciones, los métodos se realizan administrando los receptores de antígenos quiméricos o células, o composiciones que comprenden los mismos, al sujeto que tiene, que está teniendo o que se sospecha que tiene la enfermedad o afección. En algunas realizaciones, los métodos de ese modo tratan la enfermedad o afección o trastorno en el sujeto. En el presente documento también se divulga el uso de cualquiera de las composiciones, tales como las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento, para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a BCMA, tal como para su uso en una pauta de tratamiento.

Como se usa en el presente documento, "tratamiento" (y variaciones gramaticales del mismo tales como "tratar" o "que trata") se refiere a la mejora o reducción completa o parcial de una enfermedad o afección o trastorno, o un síntoma, efecto o resultado adverso, o fenotipo asociado con el mismo. Los efectos deseables del tratamiento incluyen, pero sin limitación, prevenir la aparición o la reaparición de la enfermedad, el alivio de los síntomas, la disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, prevenir la metástasis, disminuir la velocidad de progresión de la enfermedad, mejorar o paliar la patología y la remisión o la mejora del pronóstico. Los términos no implican la curación completa de una enfermedad o la eliminación completa de cualquier síntoma o efecto(s) en todos los síntomas o resultados.

Como se usa en el presente documento, "retrasar el desarrollo de una enfermedad" significa diferir, impedir, ralentizar, retardar, estabilizar, suprimir y/o posponer el desarrollo de la enfermedad (como el cáncer). Este retraso puede ser de duraciones de tiempo variables, dependiendo de los antecedentes de la enfermedad y/o del sujeto que se trate. Un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, abarcar la prevención, en el sentido de que el sujeto no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, un cáncer en estadio avanzado, tal como el desarrollo de metástasis, puede retrasarse.

"Prevención", como se usa en el presente documento, incluye proporcionar profilaxis con respecto a la aparición o reaparición de una enfermedad en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero al que aún no se le ha diagnosticado la enfermedad. En algunas realizaciones, las moléculas y composiciones divulgadas se usan para retrasar el desarrollo de una enfermedad o para ralentizar la progresión de una enfermedad.

Como se usa en el presente documento, "suprimir" una función o actividad es reducir la función o actividad en comparación con las mismas condiciones, excepto por una condición o parámetro de interés, o alternativamente, en comparación con otra condición. Por ejemplo, un anticuerpo o composición o célula que suprime el crecimiento tumoral reduce la tasa de crecimiento del tumor en comparación con la tasa de crecimiento del tumor en ausencia del

anticuerpo o composición o célula.

Una "cantidad eficaz" de un agente, por ejemplo, una formulación farmacéutica, molécula de unión, anticuerpo, células, o composición, en el contexto de la administración, se refiere a una cantidad eficaz, a las pautas/cantidades y durante los periodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado deseado, tal como un resultado terapéutico o profiláctico.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un agente, por ejemplo, una formulación farmacéutica, molécula de unión, anticuerpo, células o composición se refiere a una cantidad eficaz, a las dosis y durante los períodos de tiempo necesarios, para conseguir un resultado terapéutico deseado, tal como para el tratamiento de una enfermedad, afección o trastorno y/o efecto farmacocinético o farmacodinámico del tratamiento. La cantidad terapéuticamente eficaz puede variar de acuerdo con factores tales como la patología, la edad, el sexo, el peso del sujeto y las poblaciones de células administradas. En algunas realizaciones, los métodos divulgados implican administrar las moléculas, células y/o composiciones en cantidades eficaces, por ejemplo, cantidades terapéuticamente eficaces.

Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad que es eficaz, a las dosis y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado. Generalmente, pero no necesariamente, puesto que se usa una dosis profiláctica en sujetos antes de o en una fase más temprana de la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz.

Como se usa en el presente documento, un "sujeto" o un "individuo" es un mamífero. En algunas realizaciones, un "mamífero" incluye seres humanos, primates no humanos, animales domésticos, de granja y de zoológico, deportivos o de compañía, tales como perros, caballos, conejos, ganado vacuno, cerdos, hámsteres, jerbos, ratones, hurones, ratas, gatos, monos, *etc.* En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Se conocen métodos para la administración de células para terapia celular adoptiva y pueden usarse en relación con los métodos y composiciones divulgados. Por ejemplo, se describen métodos de terapia adoptiva de linfocitos T, por ejemplo, en las solicitudes de patente de los EE. UU. Pub. N.º 2003/0170238 de Gruenberg *et al.*; la Patente de los EE. UU. N.º 4.690.915 de Rosenberg; Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85). Véase, por ejemplo, Themeli *et al.* (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara *et al.* (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila *et al.* (2013) PLoS ONE 8(4): e61338.

Entre las enfermedades que ha de tratarse se encuentra cualquier enfermedad o trastorno asociado a BCMA o cualquier enfermedad o trastorno en el que BCMA se exprese específicamente y/o en el que BCMA haya sido objeto de tratamiento (también se denomina en el presente documento indistintamente "enfermedad o trastorno asociado a BCMA"). Los cánceres asociados a la expresión de BCMA incluyen neoplasias malignas hemáticas tales como mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenstrom, así como ambos linfomas Hodgkin y no Hodgkin. Véase Coquery *et al.*, Crit Rev Immunol., 2012, 32(4):287-305 para consultar una revisión de BCMA. Puesto que se ha implicado a BCMA en la mediación de la supervivencia de las células tumorales, es una posible diana para la terapia del cáncer. Anteriormente se han descrito receptores de antígenos quiméricos que contienen anticuerpos de ratón anti-BCMA humano y células que expresan dichos receptores quiméricos. Véase Carpenter *et al.*, Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno asociado a BCMA es un trastorno relacionado con los linfocitos B. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno asociado a BCMA es una o más enfermedades o afecciones de entre glioblastoma, granulomatosis linfomatoide, trastorno linfoproliferativo posterior a trasplante, un trastorno inmunorregulador, enfermedad de la cadena pesada, amiloidosis primaria o asociada a inmunocitos, o gammapatía monoclonal de significado indeterminado.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno asociado a BCMA es una enfermedad o trastorno autoinmunitario. Dichas enfermedades o trastornos autoinmunitarios incluyen, pero sin limitación, lupus eritematoso sistémico (LES), nefritis lúpica, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide (por ejemplo, artritis reumatoide juvenil), vasculitis asociada a ANCA, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), trombocitopenia autoinmunitaria, enfermedad de Chagas, enfermedad de Grave, granulomatosis de Wegener, poliarteritis nodosa, síndrome de Sjögren, pénfigo vulgar, esclerodermia, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, vasculitis, diabetes mellitus, síndrome de Raynaud, síndrome antifosfolipídico, enfermedad de Goodpasture, enfermedad de Kawasaki, anemia hemolítica autoinmunitaria, miastenia grave o glomerulonefritis progresiva.

En determinadas enfermedades y afecciones, BCMA se expresa en células malignas y cánceres. En algunas realizaciones, el cáncer (por ejemplo, un cáncer que expresa BCMA) es una neoplasia maligna de linfocitos B. En algunas realizaciones, el cáncer (por ejemplo, un cáncer que expresa BCMA) es un linfoma, una leucemia o una neoplasia maligna de células plasmáticas. Los linfomas contemplados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, linfoma de Burkitt (por ejemplo, linfoma de Burkitt endémico o linfoma de Burkitt esporádico), linfoma no Hodgkin (LNH), linfoma de Hodgkin, macroglobulinemia de Waldenstrom, linfoma folicular, linfoma de células pequeñas no escindidas, linfoma de tejido linfático asociado a mucosas (MALT), linfoma de la zona marginal, linfoma esplénico, linfoma ganglionar de linfocitos B monocitoides, linfoma inmunoblástico, linfoma macrocítico, linfoma difuso

de células mixtas, linfoma angiocéntrico pulmonar de linfocitos B, linfoma linfocítico pequeño, linfoma mediastínico primario de linfocitos B, linfoma linfoplasmocítico (LLP) o linfoma de células del manto (LCM). Las leucemias contempladas en el presente documento incluyen, incluyen, pero sin limitación, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia de células plasmáticas o leucemia linfocítica aguda (LLA). En el presente documento también se contemplan neoplasias malignas de células plasmáticas incluyendo, pero sin limitación, mieloma múltiple (por ejemplo, mieloma múltiple no secretor, mieloma múltiple latente) o plasmocitoma. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección es mieloma múltiple (MM), tal como mieloma múltiple en recaída y/o refractario (MM R/R). Entre las enfermedades, los trastornos o afecciones asociados a BCMA (por ejemplo, un cáncer que expresa BCMA) que pueden tratarse incluyen, pero sin limitación, neuroblastoma, carcinoma de células renales, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de células escamosas epiteliales, melanoma, mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), cáncer de estómago, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de testículo, cáncer de tiroides, cáncer de útero, cáncer suprarrenal y cáncer de cabeza y cuello.

En algunas realizaciones, los métodos pueden identificar a un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o está en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno asociado a BCMA. Por ende, se divulgan métodos para identificar sujetos con enfermedades o trastornos asociados a una expresión elevada de BCMA y seleccionarlos para el tratamiento con un BCMA-CAR divulgado y/o células modificadas por ingeniería que expresan los receptores de antígenos quiméricos.

Por ejemplo, un sujeto puede ser examinado para detectar la presencia de una enfermedad o trastorno asociado a una expresión elevada de BCMA, tal como un cáncer que expresa BCMA. En algunas realizaciones, los métodos incluyen el cribado o la detección de la presencia de una enfermedad asociada a BCMA, por ejemplo, un tumor. Por lo tanto, en algunas realizaciones, puede obtenerse una muestra de un paciente que se sospecha que tiene una enfermedad o trastorno asociado a una expresión elevada de BCMA y analizar el nivel de expresión de BCMA. En algunas realizaciones, un sujeto que da positivo para una enfermedad o trastorno asociado a BCMA puede seleccionarse para el tratamiento mediante los presentes métodos, y puede administrársele una cantidad terapéuticamente eficaz de un CAR que comprende una molécula de unión a BCMA, células que contienen un receptor recombinante o una composición farmacéutica de los mismos como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, el sujeto tiene una enfermedad persistente o recidivante, por ejemplo, tras el tratamiento con otro anticuerpo específico de BCMA y/o células que expresen un receptor quimérico dirigido a BCMA y/u otra terapia, incluyendo quimioterapia, radiación y/o trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), por ejemplo, HSCT alógeno o HSCT autólogo. En algunas realizaciones, la administración trata eficazmente al sujeto a pesar de que el sujeto se ha vuelto resistente a otra terapia dirigida a BCMA. En algunas realizaciones, el sujeto no ha recaído, pero se determina que está en riesgo de recaída, como con alto riesgo de recaída y, por lo tanto, el compuesto o composición se administra de forma profiláctica, por ejemplo, para reducir la probabilidad de recaída o prevenirla.

En algunas realizaciones, el sujeto es elegible para un trasplante, tal como que es elegible para un trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT), por ejemplo, HSCT alógeno o HSCT autólogo. En algunas de dichas realizaciones, el sujeto no ha recibido previamente un trasplante, a pesar de ser elegible, antes de la administración de los CAR anti-BCMA, células modificadas por ingeniería que expresan los CAR, pluralidad de células modificadas por ingeniería que expresan los receptores de antígenos quiméricos y/o composiciones que comprenden los mismos, como se divulga en el presente documento.

En algunas realizaciones, el sujeto no es elegible para un trasplante, tal como que no es elegible para un trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT), por ejemplo, HSCT alógeno o HSCT autólogo. En algunas de dichas realizaciones, un sujeto de este tipo recibe los CAR anti-BCMA, células modificadas por ingeniería que expresan los CAR, pluralidad de células modificadas por ingeniería que expresan los receptores y/o composiciones que comprenden los mismos, de acuerdo con las realizaciones divulgadas en el presente documento.

En algunas realizaciones, antes del inicio de la administración de las células modificadas por ingeniería, el sujeto ha recibido una o más terapias previas. En algunas realizaciones, el sujeto ha recibido al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 o más terapias previas. En algunas realizaciones, el sujeto ha recibido al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más terapias previas.

En algunas realizaciones, el sujeto ha recaído o ha sido refractario a la una o más terapias previas. En algunas realizaciones, las terapias previas incluyen el tratamiento con trasplante autólogo de células madre (ASCT); un agente inmunomodulador; un inhibidor del proteasoma; y un anticuerpo anti-CD38; a menos que el sujeto no fuera candidato o estuviera contraindicado para una o más de las terapias. En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador se selecciona de talidomida, lenalidomida o pomalidomida. En algunas realizaciones, el inhibidor del proteasoma se selecciona de entre bortezomib, carfilzomib o ixazomib. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD38 es o comprende daratumumab. En algunas realizaciones, el sujeto debe haberse sometido al menos a 2 ciclos consecutivos de tratamiento para cada pauta, a menos que la enfermedad progresiva haya sido la mejor respuesta a la pauta.

En algunas realizaciones, el método puede incluir o excluir sujetos particulares para la terapia con los receptores de antígenos quiméricos anti-BCMA divulgados y/o células que comprenden dichos receptores, basándose en criterios

particulares, el diagnóstico o la indicación. En algunas realizaciones, en el momento de la administración de la dosis de células o de la quimioterapia de linfoagotamiento previa al tratamiento, el sujeto no ha tenido leucemia de células plasmáticas (LCP) activa ni antecedentes de la misma. En algunas realizaciones, si el sujeto tiene LCP activa o antecedentes de la misma en el momento de la administración, el sujeto puede ser excluido de ser tratado de acuerdo con los métodos divulgados. En algunas realizaciones, si el sujeto desarrolla una LCP, tal como la LCP secundaria, en el momento de la administración, el sujeto puede ser excluido de ser tratado de acuerdo con los métodos divulgados. En algunas realizaciones, la evaluación de los criterios, el diagnóstico o la indicación puede realizarse en el momento de cribar a los sujetos para determinar la elegibilidad o idoneidad del tratamiento de acuerdo con los métodos divulgados, en diversas etapas de la pauta de tratamiento, en el momento de recibir la terapia de linfoagotamiento, y/o en el momento o inmediatamente antes del inicio de la administración de las células modificadas por ingeniería o de la composición de la misma.

En algunas realizaciones, el tratamiento no induce una respuesta inmunitaria por parte del sujeto a la terapia y/o no induce tal respuesta en un grado que impida el tratamiento eficaz de la enfermedad o afección. En algunas realizaciones, el grado de inmunogenicidad y/o respuesta de injerto contra huésped es menor que el observado con un tratamiento diferente pero comparable. Por ejemplo, en el caso de la terapia celular adoptiva usando células que expresan CAR, incluyendo los anticuerpos anti-BCMA divulgados, el grado de inmunogenicidad en algunas realizaciones se reduce en comparación con los CAR que incluyen un anticuerpo diferente que se une a un anticuerpo similar, por ejemplo, epítopo solapado y/o que compite por unirse a BCMA con el anticuerpo, tal como un anticuerpo de ratón, mono, conejo o humanizado.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen la terapia celular adoptiva, por lo que las células modificadas por ingeniería genética que expresan los CAR de unión a BCMA divulgados que comprenden anticuerpos anti-BCMA o fragmentos de unión a antígeno de los mismos se administran a sujetos. Dicha administración puede promover la activación de las células (por ejemplo, la activación de linfocitos T) de una manera dirigida a BCMA, de tal manera que las células de la enfermedad o trastorno se dirijan a la destrucción.

Por lo tanto, los métodos y usos divulgados incluyen métodos y usos para la terapia celular adoptiva. En algunas realizaciones, los métodos incluyen la administración de las células o una composición que contiene las células a un sujeto, tejido o células, tal como uno que tiene, está en riesgo o sospecha de tener la enfermedad, afección o trastorno. En algunas realizaciones, las células, poblaciones y composiciones, se administran a un sujeto que padece la enfermedad o afección particular que ha de tratarse, por ejemplo, a través de terapia celular adoptiva, tal como la terapia adoptiva de linfocitos T. En algunas realizaciones, las células o composiciones se administran al sujeto, tal como un sujeto que tiene o está en riesgo de tener la enfermedad o afección. En algunas realizaciones, los métodos de ese modo tratan, por ejemplo, mejoran uno o más síntomas de la enfermedad o afección, tal como reduciendo la carga tumoral en un cáncer que expresa BCMA.

Se conocen métodos para la administración de células para terapia celular adoptiva y pueden usarse en relación con los métodos y composiciones divulgados. Por ejemplo, se describen métodos de terapia adoptiva de linfocitos T, por ejemplo, en la Publicación de solicitud de patente de los EE. UU. N.º 2003/0170238 de Gruenberg *et al.*; la Patente de los EE. UU. N.º 4.690.915 de Rosenberg; Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85). Véase, por ejemplo, Themeli *et al.* (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara *et al.* (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila *et al.* (2013) PLoS ONE 8(4): e61338.

En algunas realizaciones, la terapia celular, por ejemplo, terapia celular adoptiva, por ejemplo, la terapia adoptiva de linfocitos T, se realiza mediante transferencia autóloga, en la que las células se aíslan y/o se preparan de otro modo a partir del sujeto que ha de recibir la terapia celular, o de una muestra derivada de un sujeto de este tipo. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las células derivan de un sujeto, por ejemplo, paciente, que necesita un tratamiento y las células, después del aislamiento y el procesamiento, se administran al mismo sujeto.

En algunas realizaciones, la terapia celular, por ejemplo, terapia celular adoptiva, por ejemplo, la terapia adoptiva de linfocitos T, se realiza mediante transferencia alógena, en la que las células se aíslan y/o preparan de otro modo a partir de un sujeto distinto de un sujeto que ha de recibir o que en última instancia recibe la terapia celular, por ejemplo, un primer sujeto. En dichas realizaciones, las células después se administran a un sujeto diferente, por ejemplo, un segundo sujeto, de la misma especie. En algunas realizaciones, los sujetos primero y segundo son genéticamente idénticas. En algunas realizaciones, los sujetos primero y segundo son genéticamente similares. En algunas realizaciones, el segundo sujeto expresa la misma clase o supertipo de HLA que el primer sujeto.

En algunas realizaciones, el sujeto, a quien se le administran las células, poblaciones celulares o composiciones, es un primate, tal como un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto, a quien se le administran las células, poblaciones celulares o composiciones, es un primate no humano. En algunas realizaciones, el primate no humano es un mono (por ejemplo, un macaco cangrejero) o un simio. El sujeto puede ser hombre o mujer y puede tener cualquier edad adecuada, incluyendo bebés, jóvenes, adolescentes, adultos y sujetos geriátricos. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero no primate, tal como un roedor (por ejemplo, ratón, rata, etc.). En algunos ejemplos, el paciente o sujeto es un modelo animal validado para la enfermedad, terapia celular adoptiva y/o para evaluar resultados tóxicos tales como el síndrome de liberación de citocinas (SLC).

Los CAR de unión a BCMA y las células que expresan los mismos, se pueden administrar por cualquier medio adecuado, por ejemplo, mediante inyección, por ejemplo, inyecciones intravenosas o subcutáneas, inyección intraocular, inyección periocular, inyección subretiniana, inyección intravítrea, inyección transeptal, inyección subescleral, inyección intracoroidea, inyección intracameral, inyecciones subconjuntival, inyecciones subconjuntival, inyección subtenoniana, inyección retrobulbar, inyección peribulbar o administración yuxtascleral posterior. En algunas realizaciones, se administran por vía parenteral, intrapulmonar e intranasal y, si se desea para un tratamiento local, administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intracraneal, intratorácica o subcutánea. La dosificación y la administración pueden depender en parte de si la administración es breve o crónica. Diversas pautas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, administraciones únicas o múltiples en diversos puntos de tiempo, administración de bolo e infusión de pulsos.

Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosis adecuada de la molécula de unión, receptor recombinante o célula puede depender del tipo de enfermedad que ha de tratarse, del tipo de molécula de unión o receptor recombinante, de la gravedad y de la evolución de la enfermedad, de si la molécula de unión o receptor recombinante se administra con fines preventivos o terapéuticos, de la terapia previa, de la historia clínica del paciente y de la respuesta al receptor recombinante o célula, y del criterio del médico especialista. En algunas realizaciones, las composiciones, moléculas y células se administran adecuadamente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos.

En algunas realizaciones, la dosis y/o la frecuencia de administración se determinan basándose en la eficacia y/o la respuesta. En algunas realizaciones, la eficacia se determina evaluando el estado de la enfermedad. Los ejemplos de métodos para evaluar el estado de la enfermedad incluyen: medición de la proteína M en fluidos biológicos, tales como sangre y/u orina, mediante electroforesis e inmunofijación; cuantificación de sFLC (κ y λ) en sangre; estudio del esqueleto; y formación de imágenes por tomografía de emisión de positrones (PET)/tomografía computarizada (TC) en sujetos con enfermedad extramedular. En algunas realizaciones, el estado de la enfermedad puede evaluarse mediante un examen de la médula ósea. En algunos ejemplos, la dosis y/o la frecuencia de la administración se determina por la expansión y persistencia del receptor de antígeno quimérico o célula en la sangre y/o médula ósea. En algunas realizaciones, la dosis y/o la frecuencia de administración se determinan basándose en la actividad antitumoral del receptor de antígeno quimérico o célula modificada por ingeniería. En algunas realizaciones, la actividad antitumoral se determina mediante la tasa de respuesta global (TRG) y/o los Criterios Uniformes de Respuesta del Grupo Internacional de Trabajo sobre Mieloma (IMWG, por sus siglas en inglés) (véase Kumar *et al.* (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346). En algunas realizaciones, la respuesta se evalúa usando la determinación de la enfermedad mínima residual (EMR). En las realizaciones, la ERM puede evaluarse mediante métodos tales como la citometría de flujo y la secuenciación de alto rendimiento, por ejemplo, secuenciación profunda. En algunas realizaciones, la respuesta se evalúa basándose en la duración de la respuesta después de la administración del receptor de antígeno quimérico o las células. En algunos ejemplos, la dosis y/o la frecuencia de administración pueden basarse en la toxicidad. En algunas realizaciones, la dosis y/o la frecuencia pueden determinarse basándose en la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) del sujeto al que se le administra el receptor de antígeno quimérico y/o las células. En algunas realizaciones puede cambiarse la dosis y/o la frecuencia de administración, es decir, puede aumentarse o disminuirse, basándose en cualquiera de los criterios anteriores.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno que ha de tratarse es mieloma múltiple. En algunas realizaciones, los criterios de enfermedad medibles para el mieloma múltiple pueden incluir (1) proteína M sérica 1 g/dl o superior; (2) Proteína M en orina 200 mg o más/24 horas; (3) nivel de cadenas ligeras libres en suero (CLLs) igual o superior a 10 mg/dl, con una relación anómala entre κ y λ. En algunas realizaciones, la enfermedad de cadenas ligeras sólo es aceptable en sujetos sin enfermedad medible en suero u orina.

En algunas realizaciones, el indicador del estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo del Este (ECOG, por sus siglas en inglés) puede usarse para evaluar o seleccionar sujetos para el tratamiento, por ejemplo, sujetos que han tenido malos resultados con terapias anteriores (véase, por ejemplo, Oken *et al.* (1982) Am J Clin Oncol. 5:649-655). La escala ECOG del estado funcional describe el nivel de funcionamiento de un paciente en términos de su capacidad para cuidar de sí mismo, la actividad diaria y la capacidad física (por ejemplo, caminar, trabajar, etc.). En algunas realizaciones, un estado funcional de ECOG de 0 indica que el sujeto puede realizar una actividad normal. En algunas realizaciones, los sujetos con un estado funcional de ECOG de 1 presentan alguna restricción en la actividad física, pero el sujeto es totalmente ambulatorio. En algunas realizaciones, los pacientes con un estado funcional de ECOG de 2 es más del 50 % ambulatorio. En algunas realizaciones, el sujeto con un estado funcional de ECOG de 2 también puede ser capaz de cuidar de sí mismo; véase, por ejemplo, Sorensen *et al.*, (1993) Br J Cancer 67(4) 773-775. En algunas realizaciones, el sujeto al que se va a administrar de acuerdo con los métodos o la pauta de tratamiento divulgados en el presente documento incluye a aquellos con un estado funcional de ECOG de 0 o 1.

En algunas realizaciones, la administración puede tratar al sujeto a pesar de que el sujeto se haya vuelto resistente a otra terapia. En algunas realizaciones, cuando se administra a sujetos según los casos descritos en el presente documento, la dosis o la composición es capaz de conseguir una respuesta objetiva (RO), en al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 95 % de los sujetos que la recibieron. En algunas realizaciones, la RO incluye a los sujetos que

logran una respuesta completa estricta (RCe), respuesta completa (RC), respuesta parcial muy buena (RPMB), respuesta parcial (RP) y respuesta mínima (RM). En algunas realizaciones, cuando se administra a sujetos según los casos descritos en el presente documento, la dosis o la composición es capaz de conseguir una respuesta completa estricta (RCe), respuesta completa (RC), respuesta parcial muy buena (RPMB) o respuesta parcial (RP), en al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 % u 85 % de los sujetos que la recibieron. En algunas realizaciones, cuando se administra a sujetos según los casos descritos en el presente documento, la dosis o la composición es capaz de conseguir una respuesta completa estricta (RCs) o una respuesta completa (RC) de al menos el 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 % o 70 % de los sujetos que la recibieron. En algunas realizaciones, las dosis de ejemplo incluyen aproximadamente 5,0 x 10^7, 1,5 x 10^8, 3,0 x 10^8 o 4,5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas realizaciones, la respuesta particular al tratamiento, por ejemplo, de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento, puede evaluarse basándose en los Criterios Uniformes de Respuesta del Grupo Internacional de Trabajo sobre Mieloma (IMWG, por sus siglas en inglés) (véase Kumar *et al.* (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346). En algunas realizaciones, las dosis de ejemplo para lograr resultados particulares, tales como RO, incluyen aproximadamente 5,0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR.

En algunas realizaciones, la toxicidad y/o los efectos secundarios del tratamiento pueden controlarse y usarse para ajustar la dosis y/o la frecuencia de administración del CAR, las células y/o las composiciones. Por ejemplo, los efectos adversos y las anomalías de laboratorio pueden controlarse y usarse para ajustar la dosis y/o la frecuencia de administración. Los eventos adversos incluyen reacciones a la infusión, síndrome de liberación de citocinas (SLC), la neurotoxicidad, síndrome de activación de macrófagos y síndrome de lisis tumoral (TLS). Cualquiera de estos eventos puede establecer toxicidades limitantes de la dosis y justificar la disminución de la dosis y/o la interrupción del tratamiento. Otros efectos secundarios o adversos que pueden usarse como guía para establecer la dosis y/o la frecuencia de administración incluyen efectos adversos no hemáticos, que incluyen, pero sin limitación, fatiga, fiebre o neutropenia febril, aumento de las transaminasas durante un tiempo determinado (es decir, inferior o igual a 2 semanas o inferior o igual a 7 días), cefalea, dolor de huesos, hipotensión, hipoxia, escalofríos, diarrea, náuseas/vómitos, neurotoxicidad (por ejemplo, confusión, afasia, ataques, convulsiones, letargo y/o alteración del estado mental), coagulación intravascular diseminada, otras anomalías asintomáticas no hemáticas del laboratorio clínico, tales como anomalías electrolíticas. Otros efectos secundarios o adversos que pueden usarse como guía para establecer la dosis y/o la frecuencia de administración incluyen efectos adversos hemáticos, que incluyen, pero sin limitación, neutropenia, leucocitopenia, trombocitopenia, animal y/o aplasia de linfocitos B e hipogammaglobinemia.

En algunas realizaciones, el tratamiento de acuerdo con los métodos divulgados puede dar como resultado una menor tasa y/o un menor grado de toxicidad, resultado o síntoma tóxico, perfil promotor de toxicidad, factor o propiedad, tal como un síntoma o resultado asociado a o indicativo de síndrome de liberación de citocinas (SLC) o neurotoxicidad, tales como SLC grave o neurotoxicidad grave, por ejemplo, en comparación con la administración de otras terapias.

En determinadas realizaciones, en el contexto de las células modificadas por ingeniería genética que contienen los receptores de antígenos quiméricos, a un sujeto se le administra el intervalo de aproximadamente un millón a aproximadamente 100.000 millones de células y/o esa cantidad de células por kilogramo de peso corporal, tales como, por ejemplo, de aproximadamente 1 millón a aproximadamente 50.000 millones de células (por ejemplo, aproximadamente 5 millones de células, aproximadamente 25 millones de células, aproximadamente 500 millones de células, aproximadamente 1.000 millones de células, aproximadamente 5.000 millones de células, aproximadamente 20.000 millones de células, aproximadamente 30.000 millones de células, aproximadamente 40.000 millones de células o un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores anteriores), tal como de aproximadamente 10 millones a aproximadamente 100.000 millones de células (por ejemplo, aproximadamente 20 millones de células, aproximadamente 25 millones de células, aproximadamente 30 millones de células, aproximadamente 40 millones de células, aproximadamente 50 millones de células, aproximadamente 60 millones de células, aproximadamente 70 millones de células, aproximadamente 80 millones de células, aproximadamente 90 millones de células, aproximadamente 10.000 millones de células, aproximadamente 25.000 millones de células, aproximadamente 50.000 millones de células, aproximadamente 75.000 millones de células, aproximadamente 90.000 millones de células, o un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores anteriores) y, en algunos casos, de aproximadamente 100 millones de células a aproximadamente 50.000 millones de células (por ejemplo, aproximadamente 120 millones de células, aproximadamente 150 millones de células, aproximadamente 250 millones de células, aproximadamente 300 millones de células, aproximadamente 350 millones de células, aproximadamente 450 millones de células, aproximadamente 500 millones de células, aproximadamente 600 millones de células, aproximadamente 650 millones de células, aproximadamente 800 millones de células, aproximadamente 900 millones de células, aproximadamente 1.000 millones de células, aproximadamente 1.200 millones de células, aproximadamente 3.000 millones de células, aproximadamente 30.000 millones de células, aproximadamente 45.000 millones de células o aproximadamente 50.000 millones de células) o cualquier valor entre estos intervalos y/o por kilogramo de peso corporal. De nuevo, las dosis pueden variar dependiendo de los atributos particulares de la enfermedad o trastorno y/o del paciente y/u otros tratamientos.

En algunas realizaciones, los métodos comprenden administrar una dosis de células modificadas por ingeniería o una composición que comprende una dosis de células modificadas por ingeniería. En algunas realizaciones, las células modificadas por ingeniería o las composiciones que contienen células modificadas por ingeniería pueden usarse en una pauta de tratamiento, en donde la pauta de tratamiento comprende administrar una dosis de las células

modificadas por ingeniería o una composición que comprende una dosis de las células modificadas por ingeniería. En algunas realizaciones, la dosis puede contener, por ejemplo, un número o intervalo particular de linfocitos T que expresan receptores de antígenos quiméricos, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica (PBMC) totales, tal como cualquier número de dichas células descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, puede administrarse una composición que contenga una dosis de las células. En algunas realizaciones, el número, la cantidad o la proporción de células que expresan CAR en una población o composición celular puede evaluarse mediante la detección de un marcador indirecto, por ejemplo, mediante citometría de flujo u otros medios, o detectando la unión de una molécula marcada, tal como un antígeno marcado, que pueden unirse específicamente a los receptores de antígenos quiméricos divulgados en el presente documento.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando el sujeto es un ser humano, la dosis incluye más de aproximadamente 1×10^6 células totales que expresan CAR, linfocitos T o células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y menos de aproximadamente 2×10^9 células totales que expresan CAR, linfocitos T o células mononucleares de sangre periférica (PBMC), por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ a aproximadamente $1{,}2 \times 10^9$ células de este tipo, tal como $2{,}5 \times 10^7$, 5×10^7, $1{,}5 \times 10^8$, 3×10^8, $4{,}5 \times 10^8$, 8×10^8 o $1{,}2 \times 10^9$ total de dichas células, o el intervalo entre dos valores cualesquiera de los anteriores.

En algunas realizaciones, la dosis de células modificadas por ingeniería genética comprende entre $2{,}5 \times 10^7$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica (PBMC) totales, y $1{,}2 \times 10^9$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR, linfocitos T totales o PBMC totales, entre $5{,}0 \times 10^7$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR y $4{,}5 \times 10^8$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica (PBMC) totales, entre $1{,}5 \times 10^8$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR y $3{,}0 \times 10^8$, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR, linfocitos T totales o PBMC totales, cada uno inclusive. En algunas realizaciones, el número es con referencia al número total de CD3+ o CD8+, en algunos casos también a células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo CAR+). En algunas realizaciones, la dosis comprende un número de células de o de aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ a o a aproximadamente $1{,}2 \times 10^9$ linfocitos T totales CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, de o de aproximadamente $5{,}0 \times 10^7$ a o a aproximadamente $4{,}5 \times 10^8$ linfocitos T totales CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, o de o de aproximadamente $1{,}5 \times 10^8$ a o a aproximadamente $3{,}0 \times 10^8$ linfocitos T totales CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, cada uno inclusive.

En algunas realizaciones, los linfocitos T de la dosis incluyen linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ y CD8+.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando el sujeto es humano, los linfocitos T CD8+ de la dosis, incluyendo en una dosis que incluye linfocitos T CD4+ y CD8+, incluye entre 1×10^6, o aproximadamente, y 2×10^9, o aproximadamente, células CD8+ que expresan CAR totales, por ejemplo, en el intervalo de 5×10^7, o aproximadamente, a $4{,}5 \times 10^8$, o aproximadamente, células de este tipo, tal como $2{,}5 \times 10^7$, o aproximadamente, 5×10^7, o aproximadamente, $1{,}5 \times 10^8$, o aproximadamente, 3×10^8, o aproximadamente, $4{,}5 \times 10^8$, o aproximadamente, 8×10^8, o aproximadamente, o $1{,}2 \times 10^9$, o aproximadamente, total de dichas células, o el intervalo entre cualquiera de los dos valores anteriores.

En algunas realizaciones, la dosis de linfocitos T que expresan receptores de antígenos quiméricos, se administra al sujeto como una única dosis o se administra una sola vez en un periodo de dos semanas, un mes, tres meses, seis meses, 1 año o más. En algunas realizaciones, al paciente se le administran múltiples dosis, y cada una de las dosis o la dosis total puede estar dentro de cualquiera de los valores anteriores. En algunas realizaciones, las células modificadas por ingeniería para la administración o la composición de células modificadas por ingeniería para la administración, presenta propiedades indicativas de la salud celular o coherentes con ella. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 70, 75, 80, 85 o 90 % de células CAR+ de dicha dosis presentan una o más propiedades o fenotipos indicativos de salud celular o de célula CAR biológicamente activa, tales como la ausencia de expresión de un marcador apoptótico.

En realizaciones particulares, el fenotipo es o incluye una ausencia de apoptosis y/o una indicación de que la célula está experimentando el proceso apoptótico. La apoptosis es un proceso de muerte celular programada que incluye una serie de eventos morfológicos y bioquímicos estereotipados que conducen a cambios celulares característicos y a la muerte, incluyendo la gemación, reducción del volumen celular, fragmentación nuclear, condensación de cromatina, fragmentación del ADN cromosómico y desintegración global del ARNm. En algunas realizaciones, las fases iniciales de la apoptosis pueden indicarse mediante la activación de determinadas caspasas, por ejemplo, 2, 8, 9 y 10. En algunas realizaciones, las fases media y tardía de la apoptosis se caracterizan también por que se produce una mayor pérdida de la integridad de la membrana, la condensación de la cromatina y la fragmentación del ADN, incluyen eventos bioquímicos tales como la activación de las caspasas 3, 6 y 7.

En realizaciones particulares, el fenotipo es la expresión negativa de uno o más factores asociados a la muerte celular programada, por ejemplo, factores pro-apoptóticos conocidos por iniciar la apoptosis, por ejemplo, miembros de la vía de los receptores de muerte, miembros activados de la vía mitocondrial (intrínseca), tales como miembros de la familia Bcl-2, por ejemplo, Bax, Bad y Bid, y caspasas. En determinadas realizaciones, el fenotipo es la ausencia de un

indicador, por ejemplo, una molécula de Anexina V o mediante tinción TUNEL, que se unirán preferentemente a células en apoptosis cuando se incuben o entren en contacto con una composición celular. En algunas realizaciones, el fenotipo es o incluye la expresión de uno o más marcadores que son indicativos de un estado apoptótico en la célula. En algunas realizaciones, el fenotipo es la falta de expresión y/o activación de una caspasa, tal como la caspasa 3. En algunas realizaciones, la activación de la caspasa-3 es indicativa de un aumento o reactivación de la apoptosis. En determinadas realizaciones, la activación de la caspasa puede detectarse mediante métodos conocidos. En algunas realizaciones, puede usarse un anticuerpo que se une específicamente a una caspasa activada (es decir, se une específicamente al polipéptido escindido) para detectar la activación de caspasas. En realizaciones particulares, el fenotipo es o incluye la caspasa 3 activa. En algunas realizaciones, el marcador de apoptosis es un reactivo que detecta una característica en una célula que se asocia a la apoptosis. En determinadas realizaciones, el reactivo es una molécula de anexina V.

En algunas realizaciones, las composiciones que contienen las células modificadas por ingeniería para administración contienen un determinado número o cantidad de células que presentan fenotipos indicativos de salud celular o coherentes con ella. En algunas de las realizaciones, menos de aproximadamente el 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % de los linfocitos T que expresan CAR en la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería expresan un marcador de apoptosis, opcionalmente Anexina V o Caspasa 3 activa. En algunas de las realizaciones, menos del 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % de los linfocitos T que expresan CAR en la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería expresan Anexina V o Caspasa 3 activa.

En algunas realizaciones, las células administradas son células inmunitarias modificadas por ingeniería para expresar el CAR de unión a BCMA. En algunas realizaciones, las células inmunitarias son linfocitos T. En algunas realizaciones, las células administradas son linfocitos T CD4+. En algunas realizaciones, las células administradas son linfocitos T CD8+. En algunas realizaciones, las células administradas son una combinación de linfocitos T CD4+ y CD8+, tal como una combinación de linfocitos T CAR CD4+ y linfocitos T CAR CD8+, que en algunas realizaciones están dentro del mismo vaso o composición celular o suspensión. En algunos ejemplos, la relación de células CD4+ con respecto a las células CD8+ (CD4:CD8) administradas, tal como la relación dentro de la suspensión o composición o vaso, es 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. En algunas realizaciones, la relación está entre 1:3 y 3:1 o está entre 1:4, o aproximadamente, y 4:1, o aproximadamente, o entre 1:3, o aproximadamente, y 3:1, o aproximadamente, o entre 1:2, o aproximadamente, y 2:1, o aproximadamente, o cualquiera de dichas relaciones, dentro de una tasa de error tolerada. En algunas realizaciones, entre los sujetos que reciben la terapia y/o entre los sujetos de los que se toman y procesan muestras para producir las composiciones celulares, la relación de linfocitos T-CAR CD4+ a linfocitos T-CAR CD8+ o la relación de células CD4+ a células CD8+ está dentro de un intervalo deseado, tal como entre 1:4, o aproximadamente, y 4:1, o aproximadamente, o entre 1:3, o aproximadamente, y 3:1, o aproximadamente, o entre 1:2, o aproximadamente, y 2:1, o aproximadamente, o está dentro de dicha relación deseada para un porcentaje dado de dichos sujetos, tal como para al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 % o al menos el 80 % o al menos el 85 % o al menos el 90 % o al menos el 95 %, de dichos temas.

En algunas realizaciones, las células o los receptores de antígenos quiméricos se administran como parte de un terapia de combinación, tal como de manera simultánea o de manera secuencial con, en cualquier orden, otra intervención terapéutica, tal como otro anticuerpo o célula o receptor o agente modificado por ingeniería, tal como un agente citotóxico o terapéutico.

En algunas realizaciones, las células y/o los receptores de antígenos quiméricos se administran conjuntamente con uno o más agentes terapéuticos adicionales o en conexión con otra intervención terapéutica, ya sea simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden. En algunos contextos, las células se coadministran con otra terapia lo suficientemente cercana en el tiempo como para que las poblaciones de células mejoren el efecto de uno o más agentes terapéuticos adicionales, o viceversa. En algunas realizaciones, las células y/o los receptores de antígenos quiméricos se administran antes de uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunas realizaciones, las células y/o los receptores de antígenos quiméricos se administran después de uno o más agentes terapéuticos adicionales.

En algunas realizaciones, el sujeto puede recibir una terapia puente después de la leucocitoféresis y antes de la quimioterapia de linfoagotamiento. Un médico especialista puede determinar si es necesaria una terapia puente, por ejemplo, para el control de enfermedades, durante la fabricación de la composición o células divulgadas. En algunas realizaciones, las terapias puente no incluyen agentes biológicos, tales como anticuerpos (por ejemplo, Daratumumab). En algunas realizaciones, las terapias puente se interrumpen antes del inicio del linfoagotamiento. En algunas realizaciones, las terapias puente se interrumpen 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 7 días, 10 días, 14 días, 21 días, 28 días, 45 días o 60 días antes del linfoagotamiento.

Una vez que las células se administran a un mamífero (por ejemplo, a un ser humano), la actividad biológica de las poblaciones de células modificadas por ingeniería y/o anticuerpos en algunos aspectos se mide mediante cualquiera de varios métodos conocidos. Los parámetros a evaluar incluyen la unión específica de un linfocito T natural o modificado por ingeniería u otra célula inmunitaria al antígeno, *in vivo,* por ejemplo, por obtención de imágenes, o *ex vivo*, por ejemplo, mediante ELISA o citometría de flujo. En determinadas realizaciones, la capacidad de las células modificadas por ingeniería para destruir células diana puede medirse usando cualquier método adecuado conocido

en la técnica, tal como ensayos de citotoxicidad descritos en, por ejemplo, Kochenderfer *et al.*, J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009) y Herman *et al.* J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004). En determinadas realizaciones, la actividad biológica de las células también se puede medir analizando la expresión y/o secreción de ciertas citocinas, tales como CD 107a, IPNγ, IL-2 y TNF. En algunas realizaciones, la actividad biológica se mide evaluando el resultado clínico, tal como la reducción del tamaño o la carga tumorales.

En determinadas realizaciones, las células modificadas por ingeniería se modifican de varias formas, de manera que se incremente su eficacia terapéutica o profiláctica. Por ejemplo, el CAR o TCR diseñado genéticamente expresado por la población en algunas realizaciones se conjuga directa o indirectamente a través de un enlazador con un resto de direccionamiento. La práctica de conjugar compuestos, por ejemplo, el CAR o TCR, con restos de direccionamiento es conocida en la técnica. Véase, por ejemplo, Wadwa *et al.*, J. Drug Targeting, 3(2):111 (1995) y la Patente de los EE. UU. N.º 5.087.616.

B. Terapia de combinación

También se divulgan métodos de terapia de combinación que incluyen la administración y usos, tales como los usos terapéuticos y profilácticos, de los CAR de unión a BCMA, células modificadas por ingeniería que expresan los CAR, pluralidad de células modificadas por ingeniería que expresan los receptores y/o composiciones que comprenden los mismos.

En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA y/o células modificadas por ingeniería que expresan dicho receptor de antígeno quimérico) descritos en el presente documento se administran como parte de un tratamiento de combinación o terapia de combinación, tal como simultáneamente con, secuencialmente con o intermitentemente con, en cualquier orden, una o más intervenciones terapéuticas adicionales. En algunas realizaciones, la una o más intervenciones terapéuticas adicionales incluyen, por ejemplo, un anticuerpo, una célula modificada por ingeniería, un receptor y/o un agente, tal como una célula que expresa un receptor recombinante, y/o un agente citotóxico o terapéutico, por ejemplo, un agente antineoplásico. En algunas realizaciones, la terapia de combinación incluye la administración de uno o más agentes, terapias y/o tratamientos adicionales, por ejemplo, cualquiera de los agentes, terapias y/o tratamientos adicionales descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, la terapia de combinación incluye la administración de uno o más agentes adicionales para el tratamiento o la terapia, tal como un agente inmunomodulador, un inhibidor de punto de control inmunitario, un antagonista o agonista de la vía de la adenosina o del receptor de adenosina e inhibidores de cinasas. En algunas realizaciones, el tratamiento de combinación o la terapia de combinación incluye un tratamiento adicional, tal como un tratamiento quirúrgico, trasplante y/o radioterapia. También se divulgan métodos de tratamiento de combinación o terapia de combinación que incluyen CAR de unión a BCMA, células y/o composiciones descritos en el presente documento, y una o más intervenciones terapéuticas adicionales.

En algunas realizaciones, el agente adicional para el tratamiento de combinación o la terapia de combinación potencia, impulsa y/o promueve la eficacia y/o la seguridad del efecto terapéutico de los receptores de antígenos quiméricos, células y/o composiciones. En algunas realizaciones, el agente adicional potencia o mejora la eficacia, la supervivencia o la persistencia de las células administradas, por ejemplo, células que expresan el receptor de antígeno quimérico. En algunas realizaciones, el agente adicional se selecciona de un inhibidor de la proteína fosfatasa, un inhibidor de cinasas, una citocina, un inmunomodulador o un agente que disminuye el nivel o la actividad de un linfocito T regulador (Treg). En algunas realizaciones, el agente adicional potencia la seguridad, en virtud de la reducción o mejora de los efectos adversos de los receptores de antígenos quiméricos, células y/o composiciones administrados. En algunas realizaciones, el agente adicional puede tratar la misma enfermedad, afección o una comorbilidad. En algunas realizaciones, el agente adicional puede mejorar, reducir o eliminar una o más toxicidades, efectos adversos o efectos secundarios asociados a la administración de los receptores de antígenos quiméricos, células de ingeniería y/o composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR.

En algunas realizaciones, pueden administrarse analgésicos tales como paracetamol, o antihistamínicos tales como difenhidramina, antes, durante o después de la administración del receptor de antígeno quimérico, célula o composición divulgados en el presente documento, para mejorar o reducir o eliminar efectos secundarios menores asociados al tratamiento. En algunos ejemplos, las transfusiones de glóbulos rojos y plaquetas y/o los factores estimuladores de colonias pueden reducir o eliminar una o más toxicidades, efectos adversos o efectos secundarios asociados a la administración de los receptores de antígenos quiméricos, células y/o composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR. En algunas realizaciones, pueden administrarse agentes antiinfecciosos profilácticos o empíricos (por ejemplo, trimetoprim/sulfametoxazol para la profilaxis de la neumonía por *Pneumocystis* [NPC], antibióticos de amplio espectro, agentes antifúngicos o antivíricos para la neutropenia febril) para tratar los efectos secundarios del tratamiento. En algunos ejemplos, cuando sea necesario, puede proporcionarse profilaxis para tratar la linfopenia y/o la neutropenia que se produzcan como resultado del tratamiento.

En algunas realizaciones, la terapia, tratamiento o agente adicional incluye quimioterapia, radioterapia, cirugía, trasplante, terapia celular adoptiva, anticuerpos, agentes citotóxicos, agentes quimioterápicos, citocinas, agentes inhibidores del crecimiento, agentes antihormonales, inhibidores de cinasas, agentes antiangiogénicos, cardioprotectores, agentes inmunoestimuladores., agentes inmunosupresores, inhibidores del punto de control

inmunitario, antibióticos, inhibidores de la angiogénesis, moduladores metabólicos u otros agentes terapéuticos o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el agente adicional es una proteína, un péptido, un ácido nucleico, un agente de molécula pequeña, una célula, una toxina, un lípido, un hidrato de carbono o combinaciones de los mismos, o cualquier otro tipo de agente terapéutico, por ejemplo, radiación. En algunas realizaciones, la terapia, agente o tratamiento adicional incluye cirugía, quimioterapia, radioterapia, trasplante, administración de células que expresan un receptor recombinante, por ejemplo, CAR, inhibidor de cinasas, un inhibidor de punto de control inmunitario, inhibidor de la vía mTOR, agentes inmunosupresores, inmunomoduladores, anticuerpos, agentes inmunoablativos, anticuerpos y/o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, conjugados de anticuerpos, otras terapias con anticuerpos, citotoxinas, esteroides, citocinas, vacunas peptídicas, hormonoterapia, antimetabolitos, moduladores metabólicos, fármacos que inhiben la fosfatasa calcineurina dependiente de calcio o la cinasa p70S6 FK506) o inhiben la p70S6 cinasa, agentes alquilantes, antraciclinas, alcaloides de la vinca, inhibidores del proteasoma, agonistas de GITR, inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa, inhibidores de proteína cinasa, un virus oncolítico y/u otros tipos de inmunoterapia. En algunas realizaciones, el agente o tratamiento adicional es el trasplante de médula ósea, la terapia ablativa de linfocitos T usando agentes quimioterápicos tales como, fludarabina, radioterapia de haz externo (XRT), ciclofosfamida y/o terapia con anticuerpos.

En algunas realizaciones, las células, los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA y/o las composiciones, por ejemplo, las células que expresan CAR, se administran en combinación con otras células modificadas por ingeniería, por ejemplo, otras células que expresan CAR. En algunas realizaciones, el agente activo adicional es un inhibidor de cinasas, por ejemplo, un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (Btk), por ejemplo, ibrutinib. En algunas realizaciones, el agente adicional es un antagonista o agonista de la vía de la adenosina o del receptor de adenosina. En algunas realizaciones, el agente adicional es un inmunomodulador tal como talidomida o un derivado de talidomida (por ejemplo, lenalidomida). En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de la gamma secretasa, tal como un inhibidor de la gamma secretasa que inhibe o reduce la escisión intramembrana de una diana de una gamma secretasa, por ejemplo, BCMA, en una célula (tal como una célula tumoral/cancerosa). En algunas realizaciones, la terapia, agente o tratamiento adicional es un agente citotóxico o quimioterápico, una terapia biológica (por ejemplo, anticuerpo, por ejemplo, anticuerpo monoclonal o terapia celular) o un inhibidor (por ejemplo, inhibidor de cinasa).

En algunas realizaciones, el agente adicional es un agente quimioterápico. Los agentes quimioterápicos de ejemplo incluyen una antraciclina (por ejemplo, doxorrubicina, tal como doxorrubicina liposómica); un alcaloide de la vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina); un agente de alquilación (por ejemplo, ciclofosfamida, decarbazina, melfalán, ifosfamida, temozolomida); un anticuerpo contra células inmunitarias (por ejemplo, alemtuzumab, gemtuzumab, rituximab, tositumomab); un antimetabolito (incluyendo, por ejemplo, antagonistas del ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa) tales como fludarabina); un agonista de la proteína relacionada con el TNFR inducida por glucocorticoides (GITR); un inhibidor del proteasoma (por ejemplo, aclacinomicina A, gliotoxina o bortezomib); un inmunomodulador tal como talidomida o un derivado de talidomida (por ejemplo, lenalidomida).

En algunas realizaciones, la terapia o tratamiento adicional es terapia celular, por ejemplo, terapia celular adoptiva. En algunas realizaciones, la terapia adicional incluye la administración de células modificadas por ingeniería, por ejemplo, células que expresan CAR adicionales. En algunas realizaciones, la célula modificada por ingeniería adicional es una célula que expresa CAR que expresa el mismo o diferente receptor recombinante que las células modificadas por ingeniería divulgadas en el presente documento, por ejemplo, células que expresan CAR anti-BCMA. En algunas realizaciones, el receptor recombinante, por ejemplo, CAR, expresado en la célula modificada por ingeniería adicional, reconoce un antígeno y/o un epítopo diferentes. En algunas realizaciones, el receptor recombinante, por ejemplo, CAR, expresado en la célula modificada por ingeniería adicional, reconoce un epítopo diferente del mismo antígeno que los receptores recombinantes descritos en el presente documento, por ejemplo, BCMA. En algunas realizaciones, el receptor recombinante, por ejemplo, CAR, expresado en la célula modificada por ingeniería adicional, reconoce un antígeno diferente, por ejemplo, un antígeno tumoral diferente o una combinación de antígenos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el receptor recombinante, por ejemplo, CAR, expresado en la célula modificada por ingeniería adicional, se dirige a células cancerosas que expresan marcadores de linaje temprano, por ejemplo, citoblastos cancerosos, mientras que otras células que expresan CAR se dirigen a células cancerosas que expresan marcadores de linaje posteriores. En dichas realizaciones, la célula modificada por ingeniería adicional se administra antes de, al mismo tiempo o después de la administración (por ejemplo, infusión) de las células que expresan CAR descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la célula modificada adicionalmente expresa CAR alógeno.

En algunas realizaciones, las configuraciones de una o más de las moléculas de CAR comprenden un dominio primario de señalización intracelular y dos o más, por ejemplo, 2, 3, 4 o 5 o más, dominios de señalización coestimuladores. En algunas realizaciones, la una o más de las moléculas de CAR pueden tener el mismo dominio primario de señalización intracelular o uno diferente, los mismos o diferentes dominios de señalización coestimuladores, o el mismo número o un número diferente de dominios de señalización coestimuladores. En algunas realizaciones, la una o más de las moléculas CAR pueden configurarse como un CAR dividido, en el que una de las moléculas de CAR comprende un dominio de unión a antígeno y un dominio coestimulador (por ejemplo, 4-1BB), mientras que la otra molécula de CAR comprende un dominio de unión a antígeno y un dominio de señalización intracelular primaria (por ejemplo, CD3 zeta).

En algunas realizaciones, el agente adicional es cualquiera de las células modificadas por ingeniería para expresar una o más de las moléculas de unión anti-BCMA y/o células modificadas por ingeniería para expresar moléculas de unión adicionales, por ejemplo, receptores recombinantes, por ejemplo, CAR, que se dirigen a un antígeno diferente. En algunas realizaciones, el agente adicional incluye cualquiera de las células o pluralidad de células descritas en el presente documento, por ejemplo, en la Sección I.C. En algunas realizaciones, el agente adicional es una célula modificada por ingeniería para expresar un receptor recombinante, por ejemplo, CAR, dirigido a un epítopo y/o antígeno diferente, por ejemplo, un antígeno diferente asociado a una enfermedad o afección. En algunas realizaciones, el agente adicional es una célula modificada por ingeniería para expresar un receptor recombinante, por ejemplo, CAR, dirigido a un antígeno secundario o adicional expresado en el mieloma múltiple, por ejemplo, CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI y/o FcRH5.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un agente inmunomodulador. En algunas realizaciones, la terapia de combinación incluye un agente inmunomodulador que puede estimular, amplificar y/o potenciar de otro modo una respuesta inmunitaria antitumoral, por ejemplo, una respuesta inmunitaria antitumoral de las células modificadas por ingeniería administradas, tal como mediante inhibiendo la señalización inmunosupresora o potenciando la señalización inmunoestimuladora. En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es un péptido, proteína o es una molécula pequeña. En algunas realizaciones, la proteína puede ser una proteína de fusión o una proteína recombinante. En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador se une a una diana inmunológica, tal como un receptor de superficie celular expresado en células inmunitarias, tales como linfocitos T, linfocitos B o células presentadoras de antígeno. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de unión a antígeno, una proteína de fusión, una molécula pequeña o un polipéptido. En algunas realizaciones, los receptores de antígenos quiméricos, las células y/o las composiciones se administran en combinación con un agente adicional que es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo monoclonal.

En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador bloquea, inhibe o contrarresta un componente de la vía del punto de control inmunitario. El sistema inmunitario tiene múltiples vías inhibidoras que están implicadas en el mantenimiento de la autotolerancia y en la modulación de las respuestas inmunitarias. Los tumores pueden usar determinadas vías de punto de control inmunitario como un mecanismo principal de resistencia inmunitaria, particularmente contra linfocitos T que son específicos para antígenos tumorales (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264), por ejemplo, células modificadas por ingeniería tales como células que expresan CAR. Debido a que muchos de estos puntos de control inmunitario se inician por interacciones ligando-receptor, pueden bloquearse fácilmente mediante anticuerpos contra los ligandos y/o sus receptores.

Por lo tanto, la terapia con moléculas antagonistas que bloquean una vía de punto de control inmunitario, tal como moléculas pequeñas, inhibidores de ácidos nucleicos (por ejemplo, ARNi) o moléculas de anticuerpos, se están convirtiendo en vías prometedoras de inmunoterapia para el cáncer y otras enfermedades. A diferencia de la mayoría de los agentes anticancerosos, los inhibidores de punto de control no necesariamente se dirigen directamente a las células tumorales, sino que se dirigen a los receptores de linfocitos o sus ligandos para potenciar la actividad antitumoral endógena del sistema inmunitario.

Como se usa en el presente documento, la expresión "inhibidor de punto de control inmunitario" se refiere a moléculas que reducen, inhiben, interfieren con o modulan una o más proteínas de punto de control. Las proteínas de punto de control regulan la activación o función de los linfocitos T. Estas proteínas son responsables de las interacciones inhibidoras o coestimuladoras de las respuestas de los linfocitos T. Las proteínas de punto de control inmunitario regulan y mantienen la autotolerancia y la duración y amplitud de las respuestas inmunitarias fisiológicas. En algunas realizaciones, puede administrarse al sujeto un agente adicional que pueda potenciar o estimular la respuesta inmunitaria, por ejemplo, la respuesta inmunitaria efectuada por los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones divulgados en el presente documento, contra una enfermedad o afección, por ejemplo, un cáncer, tal como cualquiera descrito en el presente documento.

Los inhibidores de punto de control inmunitario incluyen cualquier agente que bloquee o inhiba de manera estadísticamente significativa, las vías inhibidoras del sistema inmunitario. Dichos inhibidores pueden incluir inhibidores de molécula pequeña o pueden incluir anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen a y bloquean o inhiben los receptores de punto de control inmunitario, ligandos y/o interacción receptor-ligando. En algunas realizaciones, la modulación, la potenciación y/o la estimulación de determinados receptores pueden superar a los componentes de la vía de punto de control inmunitario. Las moléculas de punto de control inmunitario de ejemplo que se pueden ser diana para el bloqueo, la inhibición, la modulación, la potenciación y/o la estimulación incluyen, pero sin limitación, PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274, B7-H1), PDL2 (CD273, B7-DC), CTLA-4, LAG-3 (CD223), TIM-3, 4-1BB (CD137), 4-1BBL (CD 137L), GITR (TNFRSF18, AITR), CD40, OX40 (CD134, TNFRSF4), CXCR2, antígenos asociados a tumores (TAA), B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, B7H3, B7H4, VISTA, KIR, 2B4 (pertenece a la familia de moléculas de CD2 y se expresa en todas las NK, γδ, y linfocitos T CD8 + (αβ) de memoria), CD160 (también denominado BY55), CGEN-15049, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 o CD270), KIR, A2aR, MHC de clase I, MHC de clase II, GAL9, adenosina y un receptor del factor de crecimiento transformante (TGFR; por ejemplo, TGFR beta). Los inhibidores de punto de control inmunitario incluyen anticuerpos,

o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, u otras proteínas de unión, que se unen y bloquean o inhiben y/o potencian o estimulan la actividad de una o más de cualquiera de dichas moléculas.

Los inhibidores de punto de control inmunitario de ejemplo incluyen tremelimumab (anticuerpo que bloquea CTLA-4, también conocido como ticilimumab, CP-675.206), anti-OX40, anticuerpo monoclonal de PD-L1 (anti-B7-H1; MEDI4736), MK-3475 (bloqueador de PD-1), nivolumab (anticuerpo anti-PD-1), CT-011 (anticuerpo anti-PD-1), anticuerpo monoclonal BY55, AMP224 (anticuerpo anti-PD-L1), BMS-936559 (anticuerpo anti-PD-L1), MPLDL3280A (anticuerpo anti-PD-L1), MSB0010718C (anticuerpo anti-PD-L1) e ipilimumab (anticuerpo anti-CTLA-4, también conocido como Yervoy®, MDX-010 y MDX-101). Los anticuerpos inmunomoduladores de ejemplo incluyen, pero sin limitación, daclizumab (Zenapax), bevacuzimab (Avastin®), Basiliximab, Ipilimumab, Nivolumab, pembrolizumab, MPDL3280A, pidilizumab (CT-011), MK-3475, BMS-936559, MPDL3280A (Atezolizumab), tremelimumab, IMP321, BMS-986016, LAG525, urelumab, PF-05082566, TRX518, MK-4166, dacetuzumab (SGN-40), lucatumumab (HCD122), SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, MSB0010718C (Avelumab), MEDI4736, PDR001, rHIgM12B7, Ulocuplumab, BKT140, varlilumab (CDX-1127), ARGX-110, MGA271, lirilumab (BMS-986015, IPH2101), IPH2201, ARGX-115, Emactuzumab, CC-90002 y MNRP1685A o un fragmento de unión a anticuerpo de los mismos. Otros inmunomoduladores de ejemplo incluyen, por ejemplo, afutuzumab (disponible en Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimid (CC4047); e IRX-2 (mezcla de citocinas humanas que incluye interleucina 1, interleucina 2 e interferón gamma, CAS 951209-71-5, disponible en IRX Therapeutics).

La muerte celular programada 1 (PD-1) es una proteína de punto de control inmunitario que se expresa en los linfocitos B, células NK y linfocitos T (Shinohara *et al.*, 1995, Genomics 23:704-6; Blank *et al.*, 2007, Cancer Immunol Immunother 56:739-45; Finger *et al.*, 1997, Gene 197:177-87; Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). El papel principal de PD-1 es limitar la actividad de los linfocitos T en los tejidos periféricos durante la inflamación en respuesta a la infección, así como para limitar la autoinmunidad. La expresión de PD-1 se induce en los linfocitos T activados y la unión de PD-1 a uno de sus ligandos endógenos actúa para inhibir la activación de los linfocitos T al inhibir las cinasas estimulantes. PD-1 también actúa para inhibir la "señal de parada" de TCR. PD-1 se expresa en gran medida en los linfocitos Treg y puede aumentar su proliferación en presencia del ligando (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Los anticuerpos anti-PD 1 se han utilizado para el tratamiento de melanoma, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama triple negativo, leucemia, linfoma y cáncer de células renales (Topalian *et al.*, 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Lipson *et al.*, 2013, Clin Cancer Res 19:462-8; Berger *et al.*, 2008, Clin Cancer Res 14:3044-51; Gildener-Leapman *et al.*, 2013, Oral Oncol 49:1089-96; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85). Los anticuerpos anti-PD-1 de ejemplo incluyen nivolumab (Opdivo de BMS), pembrolizumab (Keytruda de Merck), pidilizumab (CT-011 de Cure Tech), lambrolizumab (MK-3475 de Merck) y AMP-224 (Merck), nivolumab (también denominado Opdivo, BMS-936558 o MDX1106; Bristol-Myers Squibb) es un anticuerpo monoclonal IgG4 totalmente humano que bloquea específicamente PD-1. El nivolumab (clon 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se describen en los documentos US 8.008.449 y WO2006/121168. Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) es un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se une a PD-1. El pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados se describen en el documento WO2009/101611. El pembrolizumab (anteriormente conocido como lambrolizumab, y también denominado Keytruda, MK03475; Merck) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado que se une a PD-1. El pembrolizumab y otros anticuerpos anti-PD-1 humanizados se describen en los documentos US 8.354.509 y WO2009/114335. Otros anticuerpos anti-PD-1 incluyen AMP 514 (Amplimmune), entre otros, por ejemplo, anticuerpos anti-PD-1 descritos en los documentos US 8.609.089, US 2010028330, US 20120114649 y/o US 20150210769. AMP-224 (B7-DCIg; El amplimmune; por ejemplo, descrito en los documentos WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor de fusión de PD-L2 Fc soluble que bloquea la interacción entre PD-1 y B7-H1.

PD-L1 (también conocido como CD274 y B7-H1) y PD-L2 (también conocido como CD273 y B7-DC) son ligandos para PD-1, que se encuentran en linfocitos T activados, linfocitos B, células mieloides, macrófagos y algunos tipos de células tumorales. Las terapias antitumorales se han centrado en los anticuerpos anti-PD-L1. El complejo de PD-1 y PD-L1 inhibe la proliferación de linfocitos T CD8+ y reduce la respuesta inmunitaria (Topalian *et al.*, 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Brahmer *et al.*, 2012, N Eng J Med 366:2455-65). Los anticuerpos anti-PD-L1 se han utilizado para el tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de células renales, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer de mama y neoplasias hematológicas (Brahmer *et al.*, 2012, N Eng J Med 366:2455-65; Ott *et al.*, 2013, Clin Cancer Res 19:5300-9; Radvanyi *et al.*, 2013, Clin Cancer Res 19:5541; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85; Berger *et al.*, 2008, Clin Cancer Res 14:13044-51). Los anticuerpos anti-PD-L1 de ejemplo incluyen MDX-1105 (Medarex), MEDI4736 (Medimmune) MPDL3280A (Genentech), BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) y MSB0010718C. MEDI4736 (Medimmune) es un anticuerpo monoclonal humano que se une a PD-L1 e inhibe la interacción del ligando con PD-1. MDPL3280A (Genentech/Roche) es un anticuerpo monoclonal IgG1 humano optimizado para Fc que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos contra PD-L1 se describen en la Patente de los EE. UU. N.º 7.943.743 y en la Publicación de los EE. UU. N.º 20120039906. Otros agentes de unión anti-PD-L1 incluyen YW243.55.S70 (véase WO2010/077634) y MDX-1105 (también denominado BMS-936559, y, por ejemplo, agentes de unión anti-PD-L1 descritos en el documento WO2007/005874).

El antígeno asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), también conocido como CD152, es una molécula coinhibidora que funciona para regular la activación de los linfocitos T. CTLA-4 es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que se expresa exclusivamente en los linfocitos T. CTLA-4 actúa para inhibir la activación de los linfocitos T y se informa que inhibe la actividad de los linfocitos T auxiliares y potencia la actividad inmunosupresora de los linfocitos T reguladores. Aunque el mecanismo de acción preciso de CTLA-4 continúa en investigación, se ha sugerido que inhibe la activación de los linfocitos T al superar a CD28 en la unión a CD80 y CD86, así como suministrar de forma activa señales inhibidoras al linfocito T (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Los anticuerpos anti-CTLA-4 se han utilizado en ensayos clínicos para el tratamiento de melanoma, cáncer de próstata, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico (Robert & Ghiringhelli, 2009, Oncologist 14:848-61; Ott *et al.*, 2013, Clin Cancer Res 19:5300; Weber, 2007, Oncologist 12:864-72; Wada *et al.*, 2013, J Transl Med 11:89). Una característica importante de anti-CTLA-4 es la cinética del efecto antitumoral, con un periodo de retraso de hasta 6 meses después del tratamiento inicial requerido para la respuesta fisiológica. En algunos casos, los tumores en realidad pueden aumentar de tamaño después del inicio del tratamiento, antes de que se observe una reducción (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Los anticuerpos anti-CTLA-4 de ejemplo incluyen ipilimumab (Bristol-Myers Squibb) y tremelimumab (Pfizer). Ipilimumab recibió recientemente la aprobación de la FDA para el tratamiento de melanoma metastásico (Wada *et al.*, 2013, J Transl Med 11:89).

Gen-3 de activación de linfocitos (LAG-3), también conocido como CD223, es otra proteína de punto de control inmunitario. LAG-3 se ha asociado a la inhibición de la actividad de los linfocitos y, en algunos casos, con la inducción de la anergia de los linfocitos. LAG-3 se expresa en varias células del sistema inmunitario, incluidos los linfocitos B, células NK y células dendríticas. LAG-3 es un ligando natural para el receptor MHC de clase II, que se expresa sustancialmente en linfocitos T infiltrantes de melanoma, incluidos aquellos dotados de una potente actividad inmunosupresora. Los anticuerpos anti-LAG-3 de ejemplo incluyen BMS-986016 (Bristol-Myers Squib), que es un anticuerpo monoclonal que se dirige a LAG-3. IMP701 (Immutep) es un anticuerpo contra LAG-3 antagonista e IMP731 (Immutep y GlaxoSmithKline) es un anticuerpo contra LAG-3 de agotamiento. Otros inhibidores de LAG-3 incluyen IMP321 (Immutep), que es una proteína de fusión recombinante de una porción soluble de LAG-3 e Ig que se une a moléculas de MHC de clase II y activa las células presentadoras de antígeno (APC). Se describen otros anticuerpos, por ejemplo, en los documentos WO2010/019570 y US 2015/0259420

El dominio de inmunoglobulina de linfocitos T y dominio de mucina-3 (TIM-3), identificados inicialmente en linfocitos Th1 activados, ha demostrado ser un regulador negativo de la respuesta inmunitaria. El bloqueo de TIM-3 promueve la inmunidad antitumoral mediada por linfocitos T y tiene actividad antitumoral en una variedad de modelos de tumores en ratones. Las combinaciones de bloqueo de TIM-3 con otros agentes inmunoterápicos tales como TSR-042, anticuerpos anti-CD137 y otros, pueden ser aditivas o sinérgicas en el aumento de los efectos antitumorales. La expresión de TIM-3 se ha asociado con varios tipos de tumores diferentes, incluido melanoma, NSCLC y cáncer renal, y además, se ha demostrado que la expresión de TIM-3 intratumoral se correlaciona con un mal pronóstico en una variedad de tipos de tumores, incluido NSCLC, cánceres de cuello uterino y gástricos. El bloqueo de TIM-3 también es de interés para promover una mayor inmunidad frente a una serie de enfermedades víricas crónicas. También se ha demostrado que TIM-3 interactúa con varios ligandos, incluidos galectina-9, fosfatidilserina y HMGB1, aunque cuáles de ellos, en su caso, son relevantes en la regulación de las respuestas antitumorales no está claro actualmente. En algunas realizaciones, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, pequeñas moléculas o inhibidores peptídicos dirigidos a TIM-3 pueden unirse al dominio IgV de TIM-3 para inhibir la interacción con sus ligandos. Se describen anticuerpos y péptidos de ejemplo que inhiben TIM-3 en los documentos US 2015/0218274, WO2013/006490 y US 2010/0247521. Otros anticuerpos anti-TIM-3 incluyen versiones humanizadas de RMT3-23 (Ngiow *et al.*, 2011, Cancer Res, 71:3540-3551) y el clon 8B.2C12 (Monney *et al.*, 2002, Nature, 415:536-541). Los anticuerpos biespecíficos que inhiben TIM-3 y PD-1 se describen en el documento US 2013/0156774.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de CEACAM (por ejemplo, inhibidor de CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5). En algunas realizaciones, el inhibidor de CEACAM es una molécula de anticuerpo anti-CEACAM. Se describen anticuerpos anti-CEACAM-1 de ejemplo en los documentos WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 y WO 2014/022332, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal 34B1, 26H7 y 5F4; o una forma recombinante del mismo, como se describe en, por ejemplo, los documentos US 2004/0047858, US 7.132.255 y WO 99/052552. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CEACAM se une a CEACAM-5 como se describe en, por ejemplo, Zheng *et al.* PLoS One. (2011) 6(6): e21146) o reacciona de forma cruzada con CEACAM-1 y CEACAM-5 como se describe en, por ejemplo, WO 2013/054331 y US 2014/0271618.

4-1BB, también conocido como CD137, es una glicoproteína transmembrana perteneciente a la superfamilia de TNFR. Los receptores de 4-1BB están presentes en los linfocitos T activados, linfocitos B y monocitos. Un anticuerpo anti-4-1BB de ejemplo es urelumab (BMS-663513), que tiene posibles actividades inmunoestimuladoras y antineoplásicas.

El miembro 4 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFRSF4), también conocido como OX40 y CD 134, es otro miembro de la superfamilia de TNFR. OX40 no se expresa de forma constitutiva en los linfocitos T sin exposición previa en reposo y actúa como una molécula de punto de control inmunitario coestimuladora secundaria. Son anticuerpos anti-OX40 de ejemplo MEDI6469 y MOXR0916 (RG7888, Genentech).

En algunas realizaciones, el agente adicional incluye una molécula que disminuye la población de linfocitos T

reguladores (Treg). Los métodos que disminuyen el número de linfocitos Treg (por ejemplo, los agotan) se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, el agotamiento de CD25, la administración de ciclofosfamida y la modulación de la función del gen relacionado con la familia TNFR (GITR) inducida por glucocorticoides. El GITR es un miembro de la superfamilia TNFR que se regula positivamente en los linfocitos T activados, lo que potencia el sistema inmunitario. Reducir el número de linfocitos Treg en un sujeto antes de la aféresis o antes de la administración de células modificadas por ingeniería, por ejemplo, las células que expresan CAR, puede reducir el número de células inmunitarias no deseadas (por ejemplo, Treg) en el microambiente tumoral y reducir el riesgo de recaída del sujeto. En algunas realizaciones, el agente adicional incluye una molécula que se dirige a GITR y/o que modula las funciones del GITR, tal como un agonista de GITR y/o un anticuerpo contra GITR que agota los linfocitos T reguladores (Treg). En algunas realizaciones, el agente adicional incluye la ciclofosfamida. En algunas realizaciones, la molécula de unión a GITR y/o la molécula que modula la función de GITR (por ejemplo, agonista de GITR y/o anticuerpos contra GITR que agotan Treg) se administran antes de las células modificadas por ingeniería, por ejemplo, células que expresan CAR. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agonista de GITR puede administrarse antes de la aféresis de las células. En algunas realizaciones, la ciclofosfamida se administra al sujeto antes de la administración (por ejemplo, infusión o reinfusión) de las células modificadas por ingeniería, por ejemplo, células que expresan CAR o antes de la aféresis de las células. En algunas realizaciones, la ciclofosfamida y un anticuerpo anti-GITR se administran al sujeto antes de la administración (por ejemplo, infusión o reinfusión) de las células modificadas por ingeniería, por ejemplo, células que expresan CAR o antes de la aféresis de las células.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un agonista de GITR. Los agonistas de GITR de ejemplo incluyen, por ejemplo, proteínas de fusión de GITR y anticuerpos anti-GITR (por ejemplo, anticuerpos bivalentes anti-GITR) tales como, por ejemplo, una proteína de fusión de GITR descrita en la Patente de los EE. UU. N.º 6.111.090, la Patente europea N.º 090505B1, la Patente de los EE. UU. N.º 8.586.023, Las publicaciones PCT n.º: WO 2010/003118 y 2011/090754, o un anticuerpo anti-GITR descrito, por ejemplo, la patente de los EE. UU. N.º 7.025.962, la Patente europea N.º 1947183B1, la patente de los EE. UU. N.º 7.812.135, la patente de los EE. UU. N.º 8.388.967, la patente de los EE. UU. N.º 8.591.886, la Patente Europea N.º EP 1866339, la Publicación PCT N.º WO 2011/028683, la Publicación PCT N.º WO 2013/039954, la publicación del PCT n.º WO2005/007190, la Publicación PCT N.º WO 2007/133822, la publicación del PCT n.º WO2005/055808, la Publicación PCT N.º WO 99/40196, la Publicación PCT N.º WO 2001/03720, la publicación del PCT n.º WO99/20758, la publicación del PCT n.º WO2006/083289, la Publicación PCT N.º WO 2005/115451, la Patente de los EE. UU. N.º 7.618.632 y la Publicación PCT WO 2011/051726. Un anticuerpo anti-GITR de ejemplo es TRX518.

En algunas realizaciones, el agente adicional potencia la infiltración tumoral o la transmigración de las células administradas, por ejemplo, células que expresan CAR. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente adicional estimula CD40, tal como CD40L, por ejemplo, CD40L humana recombinante. El grupo de diferenciación 40 (CD40) también es miembro de la superfamilia de TNFR. CD40 es una proteína coestimuladora que se encuentra en las células presentadoras de antígenos y media una amplia variedad de respuestas inmunitarias e inflamatorias. CD40 también se expresa en algunas neoplasias malignas, donde promueve la proliferación. Son anticuerpos anti-CD40 de ejemplo dacetuzumab (SGN-40), lucatumumab (Novartis, antagonista), SEA-CD40 (Seattle Genetics) y CP-870.893. En algunas realizaciones, el agente adicional que potencia la infiltración tumoral incluye el inhibidor de la tirosina cinasa sunitnib, heparanasa y/o receptores de quimiocinas tales como CCR2, CCR4 y CCR7.

En algunas realizaciones, el agente adicional incluye fármacos de talidomida o análogos y/o derivados de los mismos, tales como lenalidomida, pomalidomida o apremilast. Véase, por ejemplo, Bertilaccio *et al.*, Blood (2013) 122:4171, Otahal *et al.*, Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940; Fecteau *et al.*, Blood (2014) 124(10):1637-1644 y Kuramitsu *et al.*, Cancer Gene Therapy (2015) 22:487-495). La lenalidomida ((RS)-3-(4-Amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidin-2,6-diona; también conocida como Revlimid) es un derivado sintético de la talidomida, y tiene múltiples efectos inmunomoduladores, incluyendo el refuerzo de la formación de sinapsis inmunitarias entre los linfocitos T y las células presentadoras de antígenos (APC). Por ejemplo, en algunos casos, la lenalidomida modula las respuestas de los linfocitos T y provoca un aumento de la producción de interleucina (IL)-2 en los linfocitos T CD4+ y CD8+, induce el desplazamiento de las respuestas T auxiliares (*helper*) (Th) de Th2 a Th1, inhibe la expansión del subconjunto de linfocitos T reguladores (Treg) y mejora el funcionamiento de las sinapsis inmunitarias en el linfoma folicular y la leucemia linfocítica crónica (LLC) (Otahal *et al.*, Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940). La lenalidomida también tiene actividad tumoricida directa en pacientes con mieloma múltiple (MM) y modula directa e indirectamente la supervivencia de las células tumorales de LLC al afectar a las células de sostén, tales como las células nodrizas que se encuentran en el microentorno de los tejidos linfoides. La lenalidomida también puede aumentar la proliferación de linfocitos T y la producción de interferón-γ en respuesta a la activación de linfocitos T mediante la ligadura de CD3 o la activación mediada por células dendríticas. La lenalidomida también puede inducir que los linfocitos B malignos expresen niveles más altos de moléculas inmunoestimuladoras tales como CD80, CD86, HLA-DR, CD95 y CD40 (Fecteau *et al.*, Blood (2014) 124(10):1637-1644). En algunas realizaciones, la lenalidomida se administra a una dosis de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg al día, por ejemplo, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 7,5 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 15 mg, tal como de aproximadamente 5 mg, 10 mg, 15 mg o 20 mg a diario. En algunas realizaciones, la lenalidomida se administra a una dosis de aproximadamente 10 µg/kg a 5 mg/kg, por ejemplo, de aproximadamente 100 µg/kg a aproximadamente 2 mg/kg, de aproximadamente 200 µg/kg a aproximadamente 1 mg/kg, de aproximadamente 400 µg/kg a aproximadamente 600 µg/kg, tal como aproximadamente 500 µg/kg. En

algunas realizaciones, el rituximab se administra a una dosis de aproximadamente 350-550 mg/m^2 (por ej., 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475 o 475-500 mg/m^2), por ejemplo, por vía intravenosa. En algunas realizaciones, la lenalidomida se administra a dosis bajas.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de linfocitos B. En algunas realizaciones, el agente adicional es uno o más inhibidores de linfocitos B seleccionados de entre inhibidores de CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 o ROR1, o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, el inhibidor de linfocitos B es un anticuerpo (es decir, un anticuerpo mono o biespecífico) o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas realizaciones, el agente adicional es una célula modificada por ingeniería que expresa receptores recombinantes que se dirigen a dianas de linfocitos B, por ejemplo, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 o ROR 1.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de CD20, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD20 (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o biespecífico anti-CD20) o un fragmento de los mismos. Los anticuerpos anti-CD20 de ejemplo incluyen, pero sin limitación, rituximab, ofatumumab, ocrelizumab (también conocido como GA101 o RO5072759), veltuzumab, obinutuzumab, TRU-015 (Trubion Pharmaceuticals), ocaratuzumab (también conocido como AME-133v u ocaratuzumab) y Pro131921 (Genentech). Véase, por ejemplo, Lim *et al.* Haematologica. (2010) 95(1):135-43. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 comprende rituximab. El rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico ratón/humano IgG1 kappa que se une a CD20 y provoca la citólisis de una célula que expresa CD20. En algunas realizaciones, el agente adicional incluye rituximab. En algunas realizaciones, el inhibidor de CD20 es una molécula pequeña.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de CD22, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD22 (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o biespecífico anti-CD22) o un fragmento de los mismos. Los anticuerpos anti-CD22 de ejemplo incluyen epratuzumab y RFB4. En algunas realizaciones, el inhibidor de CD22 es una molécula pequeña. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoespecífico, conjugado opcionalmente con un segundo agente tal como un agente quimioterápico. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo es un conjugado de anticuerpo monoclonal anti-CD22-MMAE (por ejemplo, DCDT2980S). En algunas realizaciones, el anticuerpo es un scFv de un anticuerpo anti-CD22, por ejemplo, un scFv del anticuerpo RFB4. En algunas realizaciones, el scFv está fusionado a la totalidad o a un fragmento de la exotoxina-A de *Pseudomonas* (es decir, BL22). En algunas realizaciones, el scFv está fusionado a la totalidad o a un fragmento de (por ejemplo, un fragmento de 38 kDa de) la exotoxina-A de *Pseudomonas* (por ejemplo, moxetumomab pasudotox). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD22 es un anticuerpo biespecífico anti-CD19/CD22, opcionalmente conjugado con una toxina. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD22 comprende una porción biespecífica anti-CD19/CD22, (por ejemplo, dos ligandos de scFv, que reconocen CD19 y CD22 humanos) opcionalmente unidos a la totalidad o a una porción de la toxina diftérica (DT), por ejemplo, los 389 primeros aminoácidos de la toxina diftérica (DT), DT 390, por ejemplo, una toxina dirigida por ligando tal como DT2219ARL). En algunas realizaciones, la porción biespecífica (por ejemplo, anti-CD 19/anti-CD22) está unida a una toxina tal como la cadena A de ricina desglicosilada (por ejemplo, Combotox).

En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es una citocina. En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es una citocina o es un agente que induce una mayor expresión de una citocina en el microambiente tumoral. Las citocinas tienen funciones importantes que se refieren a la expansión, diferenciación, supervivencia y homeostasis de los linfocitos T. Las citocinas que pueden administrarse al sujeto que recibe los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones divulgados en el presente documento incluyen uno o más de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18 y IL-21. En algunas realizaciones, la citocina administrada es IL-7, IL-15 o IL-21, o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la administración de la citocina al sujeto que tiene una respuesta subóptima a la administración de las células modificadas por ingeniería, por ejemplo, las células que expresan CAR mejora la eficacia y/o la actividad antitumoral de las células administradas, por ejemplo, células que expresan CAR.

Por "citocina" se entiende un término genérico para proteínas liberadas por una población celular que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares. Ejemplos de dichas citocinas son linfocinas, monocinas y hormonas polipeptídicas tradicionales. Entre las citocinas se incluyen hormonas del crecimiento, tal como la hormona de crecimiento humana, la hormona de crecimiento humana con N-metionilo y la hormona de crecimiento bovina; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorrelaxina; hormonas glicoproteicas, tales como la hormona folículo estimulante (FSH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y hormona luteinizante (LH); factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos; prolactina; lactógeno placentario; factor de necrosis tumoral alfa y beta; sustancia inhibidora mulleriana; péptido asociado a gonadotropina de ratón; inhibina; activina; factor de crecimiento endotelial vascular; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento nervioso tales como NGF-beta; factor de crecimiento procedente de plaquetas; factores de crecimiento transformantes (TGF) tales como TGF-alfa y TGF-beta; factor de crecimiento similar a la insulina I y II; eritropoyetina (EPO); factores osteoinductivos; interferones tales como el interferón alfa, beta y gamma; factores estimulantes de colonias (CSF), tales como CSF de macrófagos (M-CSF); CSF de granulocitos-macrófagos (GM-CSF); y granulocito-CSF (G-CSF); interleucinas (IL) tales como IL-1, IL-1 alfa, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, un factor de necrosis tumoral tal como TNF-alfa o TNF-beta; y otros factores polipeptídicos que incluyen LIF y ligando en kit (KL). Como se usa en

el presente documento, el término citocina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivo de células recombinantes y equivalentes biológicamente activos de las citocinas de secuencia natural. Por ejemplo, el agente inmunomodulador es una citocina y la citocina es IL-4, TNF-α, GM-CSF o IL-2.

En algunas realizaciones, el agente adicional incluye un polipéptido de interleucina-15 (IL-15), un polipéptido del receptor alfa de la interleucina 15 (IL-15Rα) o combinaciones de los mismos, por ejemplo, hetIL-15 (Admune Therapeutics, LLC). hetIL-15 es un complejo heterodimérico no covalente de IL-15 e IL-15Rα. hetIL-15 se describe en, por ejemplo, los documentos U.S. 8.124.084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413 y U.S. 2011/0081311. En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador puede contener una o más citocinas. Por ejemplo, la interleucina puede incluir inyección de interleucina leucocitaria (Multikine), que es una combinación de citocinas naturales. En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es un agonista de receptores de tipo Toll (TLR), un adyuvante o una citocina.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un agente que mejora o neutraliza uno o más efectos tóxicos o secundarios asociados a la terapia celular. En algunas realizaciones, el agente adicional se selecciona de un esteroide (por ejemplo, corticoesteroide), un inhibidor del TNFα y un inhibidor de la IL-6. Un ejemplo de una inhibidor de TNFα es una molécula de anticuerpo anti-TNFα tal como, infliximab, adalimumab, certolizumab pegol y golimumab. Otro ejemplo de un inhibidor de TNFα es una proteína de fusión tal como entanercept. Los inhibidores de molécula pequeña del TNFα incluyen, pero sin limitación, derivados de xantina (por ejemplo, pentoxifilina) y bupropión. Un ejemplo de un inhibidor de IL-6 es una molécula de anticuerpo anti-IL-6 tal como el tocilizumab, sarilumab, elsilimomab, CNTO 328, ALD518/BMS-945429, CNTO 136, CPSI-2364, CDP6038, VX30, ARGX-109, FE301 y FM101. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-IL-6 es tocilizumab. En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de IL-1R, tal como anakinra.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un modulador de los niveles de adenosina y/o un componente de la vía de la adenosina. La adenosina puede actuar como agente inmunomodulador en el cuerpo. Por ejemplo, la adenosina y algunos análogos de adenosina que activan de forma no selectiva subtipos de receptores de adenosina disminuyen la producción de productos oxidativos inflamatorios por parte de los neutrófilos (Cronstein *et al.*, Ann. N.Y. Acad. Sci. 451:291, 1985; Roberts *et al.*, Biochem. J., 227:669, 1985; Schrier *et al.*, J. Immunol. 137:3284, 1986; Cronstein *et al.*, Clinical Immunol. Immunopath. 42:76, 1987). En algunos casos, la concentración de adenosina extracelular o análogos de adenosina puede aumentar en entornos específicos, por ejemplo, el microambiente tumoral (TME). En algunos casos, la señalización por adenosina o análogos de adenosina depende de la hipoxia o de factores implicados en la hipoxia o en su regulación, por ejemplo, el factor inducible por hipoxia (HIF). En algunas realizaciones, el aumento de la señalización de adenosina puede aumentar en AMPc intracelular y la proteína cinasa dependiente de AMPc que da como resultado la inhibición de la producción de citocinas proinflamatorias, y puede conducir a la síntesis de moléculas inmunosupresoras y el desarrollo de Treg (Sitkovsky *et al.*, Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605). En algunas realizaciones, el agente adicional puede reducir o invertir los efectos inmunosupresores de la adenosina, los análogos de adenosina y/o la señalización de adenosina. En algunas realizaciones, el agente adicional puede reducir o revertir la inmunosupresión de linfocitos T A2-adenosinérgicos impulsada por hipoxia. En algunas realizaciones, el agente adicional se selecciona de entre los antagonistas de los receptores de adenosina, agentes degradadores de adenosina extracelular, inhibidores de la generación de adenosina por las ectoenzimas CD39/CD73 e inhibidores de la señalización hipoxia-HIF-1α. En algunas realizaciones, el agente adicional es un antagonista o agonista de los receptores de adenosina.

La inhibición o reducción de la adenosina extracelular o del receptor de adenosina en virtud de un inhibidor de la adenosina extracelular (tal como un agente que evita la formación de, degradada, inactiva y/o disminuye la adenosina extracelular), y/o un inhibidor del receptor de adenosina (tal como un antagonista del receptor de adenosina) puede potenciar la respuesta inmunitaria, tal como un macrófago, neutrófilo, granulocito, una célula dendrítica, la respuesta mediada por linfocitos T y/o B. Además, los inhibidores de la vía intracelular dependiente de AMPc mediada por la proteína Gs y los inhibidores de las vías intracelulares mediadas por la proteína Gi activada por el receptor de adenosina, también pueden aumentar la inflamación aguda y crónica.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un antagonista o agonista de los receptores de adenosina, por ejemplo, un antagonista o agonista de uno o más de los receptores de adenosina A2a, A2b, A1 y A3. A1 y A3 inhiben, y A2a y A2b estimulan, respectivamente, la actividad de la adenilato ciclasa. Determinados receptores de adenosina, tales como los documentos A2a, una A2b y una A3, pueden suprimir o reducir la respuesta inmunitaria durante la inflamación. Por lo tanto, antagonizar los receptores de adenosina inmunosupresores puede aumentar, estimular o potenciar la respuesta inmunitaria, por ejemplo, la respuesta inmunitaria de las células administradas, por ejemplo, linfocitos T que expresan CAR. En algunas realizaciones, el agente adicional inhibe la producción de adenosina extracelular y la señalización desencadenada por la adenosina a través de los receptores de adenosina. Por ejemplo, la potenciación de una respuesta inmunitaria, la inflamación tisular local y la destrucción tisular selectiva pueden potenciarse inhibiendo o reduciendo la hipoxia tisular local productora de adenosina; degradando (o inactivando) la adenosina extracelular acumulada; impidiendo o disminuyendo la expresión de los receptores de adenosina en las células inmunitarias; y/o inhibiendo/antagonizando la señalización de los ligandos de adenosina a través de los receptores de adenosina.

Un antagonista es cualquier sustancia que tiende a anular la acción de otra, como un agente que se une a un receptor celular sin desencadenar una respuesta biológica. En algunas realizaciones, el antagonista es un compuesto químico que es antagonista de un receptor de adenosina, tal como el receptor A2a, A2b o A3. En algunas realizaciones, el antagonista es un péptido o un peptidomimético, que se une al receptor de adenosina pero que no desencadena una vía intracelular dependiente de proteína Gi. Se describen antagonistas de ejemplo en las Pat. de los EE. UU. N.º 5.565.566; 5.545. 627. 5.981.524; 5.861.405; 6.066.642; 6.326.390; 5.670.501; 6.117.998; 6.232.297; 5.786.360; 5.424.297; 6.313.131. 5.504.090; y 6.322.771.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un antagonista del receptor A2 (A2R), tal como un antagonista de A2a. Los ejemplos de antagonistas de A2R incluyen KW6002 (istradefyline), SCH58261, cafeína, paraxantina, 3,7-dimetil-1-propargilxantina (DMPX), 8-(m-cloroestiril) cafeína (CSC), MSX-2, MSX-3, MSX-4, CGS-15943, ZM-241385, SCH-442416, preladenant, vipadenant (BII014), V2006, ST-1535, SYN-115, PSB-1115, ZM241365, FSPTP y un ácido nucleico inhibidor dirigido a la expresión de A2R, por ejemplo, ARNip o ARNhc, o cualesquier anticuerpos o fragmento de unión a antígeno de los mismo que se dirija a un A2R. En algunas realizaciones, el agente adicional es un antagonista de A2R descrito en, por ejemplo, Ohta *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137; Jin *et al.*, Cancer Res. (2010) 70(6):2245-2255; Leone *et al.*, Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272; Beavis *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A (2013) 110:14711-14716; y Pinna, A., Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631; Sitkovsky *et al.*, Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605; US 8.080.554; US 8.716.301; US 20140056922; WO2008/147482; US 8.883.500; US 20140377240; WO02/055083; US 7.141.575; US 7.405.219; US 8.883.500; los documentos US 8.450.329 y US 8.987.279).

En algunas realizaciones, el antagonista es una molécula antisentido, una molécula de ácido nucleico inhibidora (por ejemplo, ARN inhibidor pequeño (ARNip)) o una molécula de ácido nucleico catalizadora (por ejemplo, una ribozima) que se une específicamente al ARNm que codifica un receptor de adenosina. En algunas realizaciones, la molécula antisentido, la molécula de ácido nucleico inhibidora o la molécula de ácido nucleico catalizadora se unen a los ácidos nucleicos que codifican A2a, A2b o A3. En algunas realizaciones, una molécula antisentido, la molécula de ácido nucleico inhibidora o el ácido nucleico catalizador se dirigen a vías bioquímicas posteriores al receptor de adenosina. Por ejemplo, la molécula antisentido o el ácido nucleico catalítico pueden inhibir una enzima implicada en la vía intracelular dependiente de proteína Gs o de proteína Gi. En algunas realizaciones, el agente adicional incluye una forma mutante dominante negativa de un receptor de adenosina, tal como A2a, A2b o A3.

En algunas realizaciones, el agente adicional que inhibe la adenosina extracelular incluye agentes que hacen que la adenosina extracelular no sea funcional (o disminuyen dicha función), tal como una sustancia que modifica la estructura de la adenosina para inhibir la capacidad de la adenosina de señalizar a través de los receptores de adenosina. En algunas realizaciones, el agente adicional es una enzima extracelular generadora o degradadora de adenosina, una forma modificada de la misma o un modulador de la misma. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente adicional es una enzima (por ejemplo adenosina desaminasa) u otra molécula catalítica que se une selectivamente a la adenosina y la destruye, anulando de este modo o disminuyendo significativamente la capacidad de la adenosina formada endógenamente para señalar a través de los receptores de adenosina y terminar con la inflamación.

En algunas realizaciones, el agente adicional es una adenosina desaminasa (ADA) o una forma modificada de la misma, por ejemplo, ADA recombinante y/o ADA modificada con polietilenglicol (ADA-PEG), que puede inhibir la acumulación tisular local de adenosina extracelular. ADA-PEG se ha usado en el tratamiento de pacientes con SCID ADA (Hershfield (1995) Hum Mutat. 5:107). En algunas realizaciones, un agente que inhibe la adenosina extracelular incluye agentes que impiden o disminuyen la formación de adenosina extracelular, y/o impiden o disminuyen la acumulación de adenosina extracelular, de este modo anulando, o disminuyendo sustancialmente, los efectos inmunosupresores de la adenosina. En algunas realizaciones, el agente adicional inhibe específicamente enzimas y proteínas que intervienen en la regulación de la síntesis y/o secreción de moléculas proinflamatorias, incluyendo moduladores de factores de transcripción nucleares. La supresión de la expresión del receptor de adenosina o de la vía intracelular dependiente de proteína Gs o de proteína Gi, o de la vía intracelular dependiente del AMPc, puede dar como resultado un aumento/potenciación de la respuesta inmunitaria.

En algunas realizaciones, el agente adicional puede dirigirse a las ectoenzimas que generan o producen adenosina extracelular. En algunas realizaciones, el agente adicional se dirige a las ectoenzimas CD39 y CD73, que actúan en tándem para generar adenosina extracelular. CD39 (también llamada ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa) convierte ATP (o ADP) extracelular en 5 AMP. Posteriormente, CD73 (también llamada 5' nucleotidasa) convierte el 5'AMP en adenosina. La actividad de CD39 es reversible por la acción de la NDP cinasa y la adenilato cinasa, mientras que la actividad de CD73 es irreversible. CD39 y CD73 se expresan en las células del estroma tumoral, incluyendo las células endoteliales y las Treg, y también en muchas células cancerosas. Por ejemplo, la expresión de CD39 y CD73 en las células endoteliales aumenta en las condiciones hipóxicas del microambiente tumoral. La hipoxia tumoral puede deberse a un riego sanguíneo inadecuado y a una vasculatura tumoral desorganizada, perjudicando el suministro de oxígeno (Carroll y Ashcroft (2005), Expert. Rev. Mol. Med. 7(6):1-16). La hipoxia también inhibe la adenilato cinasa (AK), que convierte la adenosina en AMP, conduciendo a una concentración extracelular de adenosina muy elevada. Por lo tanto, la adenosina se libera a concentraciones altas en respuesta a la hipoxia, que es una condición que se produce con frecuencia el microambiente tumoral (TME), en tumores sólidos o alrededor de los mismos. En algunas

realizaciones, el agente adicional es uno o más del anticuerpo anti-CD39 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-CD73 o fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, MEDI9447 o TY/23, difosfato de α-β-metileno-adenosina (ADP), ARL 67156, POM-3, IPH52 (véase, por ejemplo, Allard *et al.* Clin Cancer Res (2013) 19(20):5626-5635; Hausler *et al.*, Am J Transl Res (2014) 6(2):129-139; Zhang, B., Cancer Res. (2010) 70(16):6407-6411).

En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de la señalización del factor 1 alfa inducible por hipoxia (HIF-1α). Los inhibidores de ejemplo de HIF-1α incluyen digoxina, acriflavina, sirtuina-7 y ganetespib.

En algunas realizaciones, el agente adicional incluye un inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa, por ejemplo, un inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa es un inhibidor de SHP-1, por ejemplo, un inhibidor de SHP-1 descrito en el presente documento, tales como, por ejemplo, estibogluconato de sodio. En algunas realizaciones, el inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa es un inhibidor de SHP-2, por ejemplo, un inhibidor de SHP-2 descrito en el presente documento.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de cinasas. Los inhibidores de cinasas, tal como un inhibidor de la cinasa CDK4, un inhibidor de la cinasa BTK, un inhibidor de la cinasa MNK o un inhibidor de la cinasa DGK, pueden regular las vías de supervivencia constitutivamente activas que existen en las células tumorales y/o modular la función de las células inmunitarias. En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (BTK), por ejemplo, ibrutinib. En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de la fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 3-cinasa (PI3K). En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de CDK4, por ejemplo, un inhibidor de CDK4/6. En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de mTOR, tal como, por ejemplo, rapamicina, un análogo de rapamicina, OSI-027. El inhibidor de mTOR puede ser, por ejemplo, un inhibidor de mTORC1 y/o un inhibidor de mTORC2, por ejemplo, un inhibidor de mTORC1 y/o un inhibidor de mTORC2. En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de MNK, o un inhibidor dual de PI3K/mTOR. En algunas realizaciones, otros inhibidores de cinasa de ejemplo incluyen el inhibidor de AKT perifosina, el inhibidor mTOR temsirolimus, los inhibidores de la cinasa Src dasatinib y fostamatinib, los inhibidores de JAK2 pacritinib y ruxolitinib, los inhibidores de PKCβ enzastaurina y briostatina, y el inhibidor de AAK alisertib.

En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de BTK seleccionado de ibrutinib (PCI- 32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; e LFM-A13. En algunas realizaciones, el inhibidor de BTK no reduce ni inhibe la actividad cinasa de la cinasa inducible por interleucina-2 (ITK), y se selecciona de GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; e LFM-A13.

En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de BTK, por ejemplo, (iii) Nombre IUPAC 1-[(3R)-3-[4-Amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-ona; también conocido como PCI-32765). En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de BTK, por ejemplo, ibrutinib (PCI-32765), y el ibrutinib se administra a una dosis de aproximadamente 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 ejemplo, 250 mg, 420 mg o 560 mg) al día durante un periodo de tiempo, por ejemplo, a diario durante un ciclo de 21 días, o a diario durante un ciclo de 28 días. En algunas realizaciones, se administran 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más ciclos de ibrutinib. En algunas realizaciones, el inhibidor de BTK es un inhibidor de BTK descrito en la solicitud internacional WO 2015/079417.

En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de PI3K. PI3K es fundamental en la vía PI3K/Akt/mTOR implicada en la regulación del ciclo celular y la supervivencia de los linfomas. Un inhibidor de PI3K de ejemplo incluye idelalisib (inhibidor de PI3Kδ). En algunas realizaciones, el agente adicional es idelalisib y rituximab.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR). En algunas realizaciones, el inhibidor de cinasa es un inhibidor de mTOR seleccionado de temsirolimus; ridaforolimus (también conocido como AP23573 y MK8669); everolimus (RAD001); rapamicina (AY22989); simapimod; AZD8055; PF04691502; SF1126; y XI.765. En algunas realizaciones, el agente adicional es un inhibidor de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK), tal como vemurafenib, dabrafenib y trametinib.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un agente que regula las proteínas pro o antiapoptóticas. En algunas realizaciones, el agente adicional incluye un inhibidor del linfoma de linfocitos B 2 (BCL-2) (por ejemplo, venetoclax, también llamado ABT-199 o GDC-0199; o ABT-737). Venetoclax es una molécula pequeña (4-(4-{[2-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-1-ciclohexen-1-il]metil}-1-piperazinil)-N-({3-nitro-4-[(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)amino]fenil}sulfonil)-2-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-5-iloxi)benzamida) que inhibe la proteína antiapoptótica, BCL-2. Otros agentes que modulan las proteínas pro o antiapoptóticas incluyen el inhibidor de BCL-2 ABT-737, navitoclax (ABT-263); ARNip de Mcl-1 o retinoide inhibidor de Mcl-1 N-(4-hidroxifenil) retinamida (4-HPR) para una eficacia máxima. En algunas realizaciones, el agente adicional proporciona un estímulo proapoptótico, tal como el ligando recombinante inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL), que pueden activar la vía de la apoptosis uniéndose a los receptores de muerte TRAIL DR-4 y DR-5 en la superficie de las células tumorales, o anticuerpos agonistas TRAIl,-R2.

En algunas realizaciones, el agente adicional incluye un inhibidor de la indolamina (2,3)-dioxigenasa (IDO). IDO es

una enzima que cataliza la degradación del aminoácido, L-triptófano, a quinurenina. Muchos cánceres sobreexpresan IDO, por ejemplo, el cáncer de próstata, colorrectal, de páncreas, de cuello de útero, gástrico, de ovario, de cabeza y de pulmón. Las células dendríticas plasmocitoides (CDp), los macrófagos y las células dendríticas (CD) pueden expresar IDO. En algunas realizaciones, una disminución del L-triptófano (por ejemplo, catalizada por la IDO) da lugar a un medio inmunosupresor al inducir la anergia y la apoptosis de los linfocitos T. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un inhibidor de la IDO puede potenciar la eficacia de los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones descritas en el presente documento, por ejemplo, disminuyendo la supresión o la muerte de la célula que expresa CAR administrada. Los ejemplos de inhibidores de la IDO incluyen, pero sin limitación, 1-metil-triptófano, indoximod (New Link Genetics) (véase, por ejemplo, el identificador de ensayo clínico N.º NCT01191216; NCT01792050) e INCB024360 (Incyte Corp.) (véase, por ejemplo, el identificador de ensayo clínico N.º NCT01604889; NCT01685255).

En algunas realizaciones, el agente adicional incluye un agente citotóxico, por ejemplo, CPX-351 (Celator Pharmaceuticals), citarabina, daunorrubicina, vosaroxina (Sunesis Pharmaceuticals), sapacitabina (Cyclacel Pharmaceuticals), idarrubicina o mitoxantrona. En algunas realizaciones, el agente adicional incluye un agente hipometilante, por ejemplo, inhibidor de ADN metiltransferasa, por ejemplo, azacitidina o decitabina.

En otra realización, la terapia adicional es el trasplante, por ejemplo, un trasplante alógeno de células madre.

En algunas realizaciones, la terapia adicional es una terapia de linfoagotamiento. Se cree que la quimioterapia de linfoagotamiento mejora el injerto y la actividad de las células que expresan receptores recombinantes, tales como los linfocitos T CAR. En algunas realizaciones, la quimioterapia de linfoagotamiento puede potenciar la proliferación de linfocitos T tumorales específicos transferidos adoptivamente *in vivo* a través de la proliferación homeostática (Grossman 2004, Stachel 2004). En algunas realizaciones, la quimioterapia puede reducir o eliminar los linfocitos T reguladores CD4+CD25+, lo que puede suprimir la función de los linfocitos T transferidos adoptivamente y dirigidos a tumores (Turk 2004). En algunas realizaciones, la quimioterapia de linfoagotamiento previa a la terapia adoptiva de linfocitos T puede potenciar la expresión del factor 1 derivado de células estromales (SDF-1) en la médula ósea, aumentar la afluencia de linfocitos T modificados por ingeniería al tumor primario mediante la unión de SDF-1 con CXCR-4 expresado en la superficie de los linfocitos T (Pinthus 2004). En algunas realizaciones, la quimioterapia de linfoagotamiento puede reducir adicionalmente la carga tumoral del sujeto y disminuir potencialmente el riesgo y la gravedad del SLC.

En algunas realizaciones, se realiza una linfoagotamiento en un sujeto, por ejemplo, antes de administrar las células modificadas por ingeniería, por ejemplo, células que expresan CAR. En algunas realizaciones, el linfoagotamiento comprende administrar uno o más de melfalán, Cytoxan, ciclofosfamida y/o fludarabina. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una quimioterapia de linfoagotamiento antes de, al mismo tiempo o después de la administración (por ejemplo, infusión) de células modificadas por ingeniería, por ejemplo, células que expresan CAR. En un ejemplo, la quimioterapia de linfoagotamiento se administra al sujeto antes de la administración de las células modificadas por ingeniería, por ejemplo, células que expresan CAR. En algunas realizaciones, la quimioterapia de linfoagotamiento se administra entre 1 y 10 días antes de la administración de las células modificadas por ingeniería, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días antes del inicio de la administración de las células modificadas por ingeniería, o al menos 2 días antes, tal como al menos 3, 4, 5, 6 o 7 días antes, al inicio de la administración de la célula modificada por ingeniería. En algunas realizaciones, al sujeto se le administra un agente preacondicionador no más de 7 días antes, tal como no más de 6, 5, 4, 3 o 2 días antes, el número de días después de la quimioterapia de linfoagotamiento en que se administran las células modificadas por ingeniería puede determinarse basándose en las circunstancias clínicas o logísticas. En algunos ejemplos, pueden implementarse ajustes de dosis u otros cambios en la pauta de quimioterapia de linfoagotamiento debido a la salud del sujeto, tal como la función orgánica subyacente del sujeto, según lo determine el médico especislita.

En algunas realizaciones, la quimioterapia de linfoagotamiento comprende la administración de un agente linfoagotador, tal como ciclofosfamida, fludarabina o combinaciones de las mismas, En algunas realizaciones, al sujeto se le administra ciclofosfamida a una dosis entre o aproximadamente 20 mg/kg y 100 mg/kg de peso corporal del sujeto, tal como entre o entre aproximadamente 40 mg/kg y 80 mg/kg. En algunas realizaciones, al sujeto se le administra aproximadamente 60 mg/kg de ciclofosfamida. En algunas realizaciones, la ciclofosfamida se administra una vez al día durante uno o dos días. En algunas realizaciones, cuando el agente de linfoagotamiento comprende ciclofosfamida, al sujeto se le administra ciclofosfamida a una dosis entre o aproximadamente 100 mg/m^2 y 500 mg/m^{2}superficie corporal del sujeto, tal como entre o entre aproximadamente 200 mg/m^2 y 400 mg/m^2, o 250 mg/m^2 y 350 mg/m^2, inclusive. En algunas realizaciones, al sujeto se le administran aproximadamente 300 mg/m^2 de ciclofosfamida. En algunas realizaciones, la ciclofosfamida puede administrarse en una dosis única o puede administrarse en una pluralidad de dosis, tal como a diario, en días alternos o cada tres días. En algunas realizaciones, la ciclofosfamida se administra a diario, tal como durante 1-5 días, por ejemplo, durante 2 a 4 días. En algunas realizaciones, al sujeto se le administra aproximadamente 300 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, de ciclofosfamida, a diario durante 3 días, antes del inicio de la terapia celular.

En algunas realizaciones, cuando el agente de linfoagotamiento comprende fludarabina, al sujeto se le administra fludarabina a una dosis entre o aproximadamente 1 mg/m^2 y 100 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, tal como

entre o entre aproximadamente 10 mg/m^2 y 75 mg/m^2, 15 mg/m^2 y 50 mg/m^2, 20 mg/m^2 y 40 mg/m^2 o 24 mg/m^2 y 35 mg/m^2, inclusive. En algunas realizaciones, al sujeto se le administra 30 mg/m^2 de fludarabina. En algunas realizaciones, la fludarabina puede administrarse en una sola dosis o puede administrarse en una pluralidad de dosis, tal como a diario, en días alternos o cada tres días. En algunas realizaciones, la fludarabina se administra diariamente, tal como durante 1-5 días, por ejemplo, durante 2 a 4 días. En algunas realizaciones, al sujeto se le administra aproximadamente 30 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, de fludarabina, a diario durante 3 días, antes del inicio de la terapia celular.

En algunas realizaciones, el agente de linfocitoagotamiento comprende una combinación de agentes, tal como una combinación de ciclofosfamida y fludarabina. Por lo tanto, la combinación de agentes puede incluir ciclofosfamida a cualquier dosis o pauta de administración, tales como las que se han descrito anteriormente, y fludarabina a cualquier dosis o pauta de administración, tales como las que se han descrito anteriormente. Por ejemplo, en algunas realizaciones, al sujeto se le administra fludarabina a 30 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, a diario, y ciclofosfamida a 300 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, a diario, durante 3 días.

En algunas realizaciones, puede administrarse terapia antiemética, excepto dexametasona u otros esteroides, antes de la quimioterapia de linfoagotamiento. En algunas realizaciones, puede usarse Mesna en sujetos con antecedentes de cistitis hemorrágica.

En algunas realizaciones, el agente adicional es un virus oncolítico. En algunas realizaciones, los virus oncolíticos son capaces de replicarse selectivamente en una célula cancerosa y provocar su muerte o ralentizar su crecimiento. En algunos casos, los virus oncolíticos no tienen ningún efecto o tienen un efecto mínimo en las células no cancerosas. Un virus oncolítico incluye, pero sin limitación, un adenovirus oncolítico, los virus del herpes simple oncolíticos, el retrovirus oncolítico, el parvovirus oncolítico, el virus vaccinia oncolítico, el virus Sinbis oncolítico, el virus de la gripe oncolítico o los virus de ARN oncolíticos (por ejemplo, el reovirus oncolítico, el virus de la enfermedad de Newcastle oncolítico (NDV), el virus del sarampión oncolítico o el virus de la estomatitis vesicular oncolítico (VSV)).

Otra terapia de combinación, tratamiento y/o agentes de ejemplo incluyen agentes antialérgicos, antieméticos, analgésicos y terapias complementarias. En algunas realizaciones, el agente adicional incluye agentes citoprotectores, tales como neuroprotectores, agentes neutralizantes de radicales libres, cardioprotectores, neutralizadores de la extravasación de antraciclinas y nutrientes.

En algunas realizaciones, un anticuerpo utilizado como agente adicional está conjugado o unido de otro modo a un agente terapéutico, por ejemplo, un agente antineoplásico (por ejemplo, Cytoxan, fludarabina, inhibidor de la histona desacetilasa, agente de desmetilación, vacuna peptídicas, antibiótico antitumoral, inhibidor de tirosina cinasas, agentes alquilantes, agentes antimicrotúbulos o antimitóticos), agentes antialérgico, agente contra las náuseas (o antiemético), analgésico o citoprotector descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el agente adicional es un conjugado anticuerpo-fármaco.

En algunas realizaciones, el agente adicional puede modular, inhibir o estimular factores particulares en los niveles de ADN, ARN o proteínas, para potenciar o estimular la eficacia de los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones de la presente memoria divulgadas en el presente documento. En algunas realizaciones, el agente adicional puede modular los factores a nivel de ácido nucleico, por ejemplo, ADN o ARN, dentro de las células administradas, por ejemplo, células modificadas para expresar CAR. En algunas realizaciones, un ácido nucleico inhibidor, por ejemplo, un ácido nucleico inhibidor, por ejemplo, un ARNbc, por ejemplo, un ARNip o ARNhc, o una repetición corta palindrómica agrupada y regularmente interespaciada (CRISPR), una nucleasa efectora similar a un activador de la transcripción (TALEN) o una endonucleasa de dedos de cinc (ZFN), pueden usarse para inhibir la expresión de una molécula inhibidora en la célula modificada por ingeniería, por ejemplo, la célula que expresa CAR. En algunas realizaciones, el inhibidor es un ARNhc. En algunas realizaciones, la molécula inhibidora se inhibe dentro de la célula modificada por ingeniería, por ejemplo, la célula que expresa CAR. En algunas realizaciones, una molécula de ácido nucleico que codifica una molécula de ARNbc que inhibe la expresión de la molécula que modula o regula, por ejemplo, inhibe, la función de los linfocitos T está unida operativamente a un promotor, por ejemplo, un promotor derivado de Hl o de U6, de manera que la molécula de ARNbc que inhibe la expresión de la molécula inhibidora se expresa dentro de la célula modificada por ingeniería, por ejemplo, la célula que expresa CAR. Véase, por ejemplo, Brummelkamp TR, *et al.* (2002) Science 296: 550- 553; Miyagishi M, *et al.* (2002) Nat. Biotechnol. 19: 497-500.

En algunas realizaciones, el agente adicional es capaz de alterar el gen que codifica una molécula inhibidora, tal como cualesquier inhibidores de punto de control inmunitario descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, la alteración es por supresión, por ejemplo, supresión de un gen completo, exón, o región, y/o sustitución con una secuencia exógena, y/o por mutación, por ejemplo, desplazamiento de marco o mutación de sentido erróneo, dentro del gen, normalmente dentro de un exón del gen. En algunas realizaciones, la alteración da como resultado la incorporación de un codón de parada prematuro en el gen, de manera que la molécula inhibidora no se expresa o no se expresa en una forma capaz de expresarse en la superficie de las células y/o capaz de mediar en la señalización celular. La alteración se realiza generalmente a nivel de ADN. La alteración generalmente es permanente, irreversible o no transitorio.

En algunas realizaciones, la alteración se realiza mediante edición génica, tal como usando una proteína de unión a ADN o un ácido nucleico de unión a ADN, que se une o se hibrida específicamente con el gen en la región que se desea alterar. En algunas realizaciones, la proteína o el ácido nucleico está acoplado o complejado con una nucleasa, tal como en una proteína quimérica o de fusión. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la disrupción se efectúa usando una fusión que comprende una proteína que se dirige al ADN y una nucleasa, tal como una nucleasa de dedos de cinc (ZFN) o una nucleasa efectora TAL (TALEN), o una nucleasa guiada por ARN como un sistema de ácido nucleico corto palindrómico agrupado y regularmente interespaciado (CRISPR)-Cas, tal como el sistema CRISPR-Cas9, específico para el gen alterado. En algunas realizaciones, los métodos de producción o generación de células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, las células que expresan CAR, incluyen la introducción en una población de células de moléculas de ácido nucleico que codifican un CAR modificado genéticamente y moléculas de ácido nucleico que codifican un agente dirigido a una molécula inhibidora que es una nucleasa de edición génica, tal como una fusión de una proteína dirigida al ADN y una nucleasa tal como una ZFN o una TALEN, o una nucleasa guiada por ARN tal como del sistema CRISPR-Cas9, específica para una molécula inhibidora.

Cualquiera de los agentes adicionales descritos en el presente documento puede prepararse y administrarse como terapia de combinación con el antígeno quimérico receptor de unión a BCMA y/o las células modificadas por ingeniería que expresan dicho receptor descrito en el presente documento, tal como en composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agentes de la terapia de combinación y un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como cualquiera descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el receptor de antígeno quimérico de unión a BCMA, las células modificadas por ingeniería que expresan dicho receptor, la pluralidad de células modificadas por ingeniería que expresen dicho receptor pueden administrarse simultáneamente, concurrentemente o secuencialmente, en cualquier orden con los agentes, la terapia o el tratamiento adicionales, en donde dicha administración proporciona niveles terapéuticamente eficaces de cada uno de los agentes en el cuerpo del sujeto. En algunas realizaciones, el agente adicional puede coadministrarse con los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones descritas en el presente documento, por ejemplo, como una parte de la misma composición farmacéutica o usando el mismo método de administración. En algunas realizaciones, el agente adicional se administra simultáneamente con los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones descritas en el presente documento, pero en composiciones separadas. En algunas realizaciones, el agente adicional es una célula modificada por ingeniería adicional, por ejemplo, una célula modificada por ingeniería para expresar un receptor recombinante diferente, y se administra en la misma composición o en una composición separada. En algunas realizaciones, el agente adicional se incuba con la célula modificada por ingeniería, por ejemplo, las células que expresan CAR, antes de la administración de las células.

En algunos ejemplos, el uno o más agentes adicionales se administran posterior o previamente a la administración de los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones descritas en el presente documento, separadas por un periodo de tiempo seleccionado. En algunos ejemplos, el plazo es de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o 3 meses. En algunos ejemplos, los uno o más agentes adicionales se administran múltiples veces y/o los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones descritas en el presente documento, se administran múltiples veces. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente adicional se administra antes de los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones descritas en el presente documento, por ejemplo, dos semanas, 12 días, 10 días, 8 días, una semana, 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día antes de la administración. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente adicional se administra después de los receptores de antígenos quiméricos de unión a BCMA, las células y/o las composiciones descritas en el presente documento, por ejemplo, dos semanas, 12 días, 10 días, 8 días, una semana, 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día después de la administración.

La dosis del agente adicional puede ser cualquier cantidad terapéuticamente eficaz, por ejemplo, cualquier cantidad de dosis descrita en el presente documento, y la dosis adecuada del agente adicional puede depender del tipo de enfermedad que ha de tratarse, el tipo, la dosis y/o la frecuencia del receptor recombinante, la célula y/o la composición administrada, de la gravedad y de la evolución de la enfermedad, de si el receptor recombinante, la célula y/o la composición se administran con fines preventivos o terapéuticos, de la terapia previa, de la historia clínica del paciente y de la respuesta al receptor recombinante, la célula y/o la composición, y del criterio del médico especialista. El receptor recombinante, la célula y/o la composición y/o el agente adicional y/o la terapia pueden administrarse al paciente de una sola vez, de forma repetida o pueden administrarse a lo largo de una serie de tratamientos.

VI. ARTÍCULOS DE FABRICACIÓN O KITS

En el presente documento también se describen artículos de fabricación o kit que contienen los receptores recombinantes divulgados (por ejemplo, CAR), células modificadas por ingeniería genética y/o composiciones que comprenden los mismos. Los artículos de fabricación pueden incluir un recipiente y una etiqueta o prospecto sobre o asociado al recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringuillas, tubos de ensayo, bolsas de solución IV, etc. Los recipientes pueden estar formados por una diversidad de materiales tales como vidrio o plástico. En algunos casos descritos en el presente documento, el recipiente tiene un puerto de acceso aséptico. Los recipientes de ejemplo incluyen bolsas de solución intravenosa, viales, incluyendo aquellos que tienen tapones

perforables con una aguja para inyección. El artículo de fabricación o kit puede incluir además un prospecto que indique que las composiciones pueden usarse para tratar una afección particular tal como una afección descrita en el presente documento (por ejemplo, mieloma múltiple). Como alternativa, o adicionalmente, el artículo de fabricación puede incluir además otro o el mismo recipiente que comprenda un tampón farmacéuticamente aceptable. Puede incluir además otros materiales tales como otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y/o jeringuillas.

La etiqueta o el prospecto pueden indicar que la composición se usa para tratar la enfermedad, trastorno o afección que expresa BCMA o asociada a BCMA en un individuo. La etiqueta o el prospecto, que se encuentra en el recipiente o asociado a él, puede indicar las instrucciones para reconstituir y/o usar la formulación. La etiqueta o el prospecto pueden indicar además que la formulación es útil o está destinada a la administración subcutánea, intravenosa o de otro modo para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno o afección que expresa BCMA o asociada a BCMA en un individuo.

En algunos casos, el recipiente descrito en el presente documento contiene una composición que es por sí misma o combinada con otra composición eficaz para tratar, prevenir y/o diagnosticar la afección. El artículo de fabricación o kit puede incluir (a) un primer recipiente con una composición contenida en el mismo (es decir, primer medicamento), en donde la composición incluye el anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo anti-BCMA) o fragmento de unión a antígeno del mismo o receptor recombinante (por ejemplo, CAR); y b) un segundo recipiente con una composición contenida en el mismo (es decir, un segundo medicamento), en donde la composición incluye un agente adicional, tal como un agente citotóxico u otro agente terapéutico, y cuyo artículo o kit comprende además instrucciones en la etiqueta o prospecto para tratar al sujeto con el segundo medicamento, en una cantidad eficaz.

VII. DEFINICIONES

Como se usa en el presente documento, la referencia a una "forma correspondiente" de un anticuerpo significa que cuando se compara una propiedad o actividad de dos anticuerpos, la propiedad se compara usando la misma forma del anticuerpo. Por ejemplo, si se establece que un anticuerpo tiene mayor actividad en comparación con la actividad de la forma correspondiente de un primer anticuerpo, eso significa que una forma particular, tal como un scFv de ese anticuerpo, tiene mayor actividad en comparación con la forma scFv del primer anticuerpo.

La expresión "región Fc" en el presente documento se usa para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. La expresión incluye regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. En un caso, una región Fc de cadena pesada de IgG humana se extiende de Cys226 o de Pro230, al extremo carboxilo de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C-terminal (Lys447) de la región Fc puede estar presente o no. A menos que se especifique otra cosa en el presente documento, la numeración de los restos de aminoácidos en la región Fc o en la región constante es de acuerdo con el sistema de numeración EU, también denominado el índice EU, como se describe en Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

Las expresiones "anticuerpo de longitud completa", "anticuerpo inalterado", y "anticuerpo completo" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a un anticuerpo que tiene una estructura sustancialmente similar a una estructura de anticuerpo nativo o que tiene cadenas pesadas que contienen una región Fc como se define en el presente documento.

Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha separado de un componente de su entorno natural. En algunas ocasiones, un anticuerpo se purifica hasta una pureza superior al 95 % o 99 % como se determina mediante, por ejemplo, métodos electroforéticos (por ejemplo, SDS-PAGE, enfoque isoeléctrico (IEF), electroforesis capilar) o cromatográficos (por ejemplo, intercambio iónico o HPLC de fase inversa). Para una revisión de los métodos para evaluar la pureza de los anticuerpos, véase, por ejemplo, Flatman *et al.*, J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007).

Un ácido nucleico "aislado" se refiere a una molécula de ácido nucleico que se ha separado de un componente de su entorno natural. Un ácido nucleico aislado incluye una molécula de ácido nucleico contenido en células que normalmente contienen la molécula de ácido nucleico, pero la molécula de ácido nucleico está presente extracromosómicamente o en una ubicación cromosómica que es diferente de su ubicación cromosómica natural.

"Ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-BCMA" se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos (o fragmentos de las mismas), incluyendo dicha una o más moléculas de ácido nucleico en un único vector o en vectores separados y dicha una o más moléculas de ácido nucleico presentes en una o más ubicaciones en una célula hospedadora.

Las expresiones "célula hospedadora", "estirpe celular hospedadora", y "cultivo de células hospedadoras", se usan indistintamente y se refieren a células en las que se ha introducido ácido nucleico exógeno, incluyendo la descendencia de dichas células. Las células hospedadoras incluyen "transformantes" y "células transformadas", que incluyen la célula primaria transformada y la descendencia derivada de la misma, independientemente del número de pases. Es posible que la descendencia no sea totalmente idéntica en cuanto al contenido de ácido nucleico a una célula progenitora, sino que puede contener mutaciones. En el presente documento se incluye la descendencia mutante que

tiene la misma función o actividad biológica que la cribada o seleccionada en la célula transformada originariamente.

Los términos "polipéptido" y "proteína" se usan indistintamente para referirse a un polímero de restos de aminoácidos, y no se limitan a una longitud mínima. Los polipéptidos, incluyendo los anticuerpos y las cadenas de anticuerpos y otros péptidos, por ejemplo, enlazadores y péptidos de unión a BCMA, pueden incluir restos de aminoácidos que incluyen restos de aminoácidos naturales y/o no naturales. Los términos también incluyen modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilación, sialilación, acetilación, fosforilación y similares. En algunos aspectos, los polipéptidos pueden contener modificaciones con respecto a una secuencia nativa o natural, siempre que la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, como mediante mutagénesis dirigida, o pueden ser accidentales, tal como mediante mutaciones de hospedadores que producen las proteínas o errores debidos a la amplificación por la PCR.

Como se usa en el presente documento, "porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" y "porcentaje de identidad" e "identidad de secuencia" cuando se usan con respecto a una secuencia de aminoácidos (secuencia de polipéptido de referencia) se definen como el porcentaje de restos de aminoácidos en una secuencia candidata (por ejemplo, el anticuerpo o fragmento en cuestión) que son idénticos a los restos de aminoácidos en la secuencia polipeptídica de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si fuera necesario, para conseguir el porcentaje máximo de identidad de secuencia y sin tener en cuenta ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. La alineación con fines de determinación del porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede conseguirse de diversas maneras que se encuentran dentro de la experiencia en la técnica, por ejemplo, usando programas informáticos disponibles públicamente, tales como el software BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la materia pueden determinar los parámetros adecuados para alinear secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para conseguir la alineación máxima a lo largo de la longitud completa de las secuencias que se estén comparando.

Una sustitución de aminoácidos puede incluir la sustitución de un aminoácido en un polipéptido por otro aminoácido. Se pueden introducir sustituciones de aminoácidos en una molécula de unión, por ejemplo, anticuerpo, de interés y se pueden seleccionar los productos para una actividad deseada, por ejemplo, unión a antígeno conservada/mejorada o inmunogenicidad reducida.

Los aminoácidos generalmente pueden agruparse de acuerdo con las siguientes propiedades comunes de la cadena lateral:

(1) hidrófobos: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
(2) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
(3) ácidos: Asp, Glu;
(4) básicos: His, Lys, Arg;
(5) restos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro;
(6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

Las sustituciones de aminoácidos no conservativas implicarán el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

El término "vector", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de ácido nucleico que puede propagar otro ácido nucleico al que está unido. El término incluye el vector en forma de una estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula hospedadora en la que se ha introducido. Determinados vectores son capaces de dirigir la expresión de ácidos nucleicos a los que están unidos operativamente. Dichos vectores se denominan en el presente documento "vectores de expresión".

El término "prospecto" se usa para referirse a las instrucciones habitualmente incluidas en los envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, terapia de combinación, contraindicaciones y/o advertencias relativas al uso de dichos productos terapéuticos.

Como se usa en el presente documento, las formas en singular "un/uno", "uno/a", "el" y "la", incluyen las referencias en plural a menos que el contexto indique claramente otra cosa. Por ejemplo, "un" o "uno/a" significa "al menos uno/a" o "uno/a o más". Se entiende que aspectos, casos y variaciones descritos en el presente documento incluyen "que comprende", "que consiste", y/o "que consiste esencialmente en" aspectos, casos y variaciones.

A lo largo de la presente divulgación, diversos aspectos de la materia objeto reivindicada se presentan en un formato de intervalo. Ha de comprenderse que la descripción en formato de intervalo es meramente por conveniencia y brevedad, y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la materia objeto reivindicada. En consecuencia, debe considerarse que la descripción de un intervalo ha divulgado específicamente todos los subintervalos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor afirmado o que interviene en el intervalo comentado queda englobado dentro de la materia objeto reivindicada. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse

independientemente en los intervalos más pequeños, y también se incluyen en la materia objeto reivindicada, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen alguno o ambos de los límites incluidos también quedan englobados en la materia objeto reivindicada. Esto es aplicable independientemente de la amplitud del intervalo.

El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, se refiere al intervalo de error habitual para el valor correspondiente, fácilmente conocido por los expertos en este campo técnico. La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) casos que se refieren a ese valor o parámetro en sí. Por ejemplo, una descripción que hace referencia a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X".

Como se usa en el presente documento, una composición se refiere a cualquier mezcla de dos o más productos, sustancias o compuestos, incluyendo células. Puede ser una solución, una suspensión, líquido, polvo, una pasta, acuosa, no acuosa o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en el presente documento, una afirmación de que una célula o población celular es "positiva" para un marcador particular se refiere a la presencia detectable sobre o en la célula de un marcador particular, normalmente un marcador de superficie. Cuando se hace referencia a un marcador de superficie, el término se refiere a la presencia de expresión superficial detectada mediante citometría de flujo, por ejemplo, mediante tinción con un anticuerpo que se une específicamente al marcador y detectando dicho anticuerpo, en donde la tinción es detectable por citometría de flujo a un nivel sustancialmente por encima de la tinción detectada llevando a cabo el mismo procedimiento con un control de isotipo coincidente en condiciones por lo demás idénticas y/o en un nivel sustancialmente similar al de la célula que se sabe que es positiva para el marcador y/o a un nivel sustancialmente superior al de una célula que se sabe que es negativa para el marcador.

Como se usa en el presente documento, una afirmación de que una célula o población celular es "negativa" para un marcador en particular se refiere a la ausencia de presencia sustancial detectable sobre o en la célula de un marcador particular, normalmente un marcador de superficie. Cuando se hace referencia a un marcador de superficie, el término se refiere a la ausencia de expresión superficial detectada mediante citometría de flujo, por ejemplo, mediante tinción con un anticuerpo que se une específicamente al marcador y detectando dicho anticuerpo, en donde la tinción no es detectada por citometría de flujo a un nivel sustancialmente por encima de la tinción detectada llevando a cabo el mismo procedimiento con un control de isotipo emparejado bajo condiciones idénticas por lo demás, y/o en un nivel sustancialmente menor que el de la célula que se sabe que es positiva para el marcador, y/o en un nivel sustancialmente similar en comparación con el de una célula que se sabe que es negativa para el marcador.

A menos que se defina otra cosa, todos los términos de la técnica, se pretende que las notaciones y otros términos o terminología técnicos y científicos utilizados en el presente documento tengan el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la materia objeto reivindicada. En algunos casos, los términos con significados comúnmente entendidos se definen en el presente documento para mayor claridad y/o para tener una referencia inmediata, y la inclusión de dichas definiciones en el presente documento no debe interpretarse necesariamente como una diferencia sustancial con respecto a lo que generalmente se entiende en la técnica.

Los títulos de sección utilizados en el presente documento tienen únicamente fines organizativos y no han de interpretarse como una limitación de la materia objeto descrita.

IX. Ejemplos

Los siguientes ejemplos se incluyen únicamente con fines de ejemplo y no tienen por objeto limitar el alcance de las reivindicaciones. Cuando los Ejemplos ilustran desarrollos que no están reivindicados como tales, se facilitan únicamente a título informativo.

Ejemplo 1: Generación y evaluación de anticuerpos anti-BCMA (cadena de V_H solamente)

Se generaron y se evaluaron anticuerpos anti-BCMA de ejemplo que contenían una región variable de cadena pesada (V_H) que se une específicamente a BCMA, incluso en ausencia de una región variable de cadena ligera (V_L).

A. Selección de bibliotecas y generación de anticuerpos

Se generaron varias regiones V_H de unión a BCMA mediante una serie de etapas de selección llevados a cabo en miembros de una biblioteca V_H de anticuerpos humanos normales de donante marcados con His y codificados con ADNbc presentados en un sistema sin células. Los miembros de la biblioteca V_H se sometieron a múltiples rondas de cribado para seleccionar regiones V_H que se unieran específicamente a BCMA humano soluble fusionado a una región Fc de inmunoglobulina (hBMCA-Fc). Se analizaron las regiones V_H de grupos seleccionados de hBCMA-Fc, mediante citometría de flujo usando un anticuerpo anti-HIS conjugado con fluorocromo, para determinar la unión a una estirpe celular HEK293 recombinante que expresaba BCMA humano (estirpe celular hBCMA/HEK293), en comparación con la estirpe celular HEK293 progenitora que no expresa BCMA, así como para la unión a una estirpe celular de mieloma

humano que expresaba BCMA endógeno (células H929). Los resultados identificaron clones de la región V_H que presentaban una unión específica a las células hBCMA/HEK293 y, en menor medida, a las células H929.

Se secuenciaron y purificaron clones de V_H de ejemplo que presentaban una unión específica a estirpes celulares que expresan BCMA, pero no a células de control de negativas para BCMA, para su posterior caracterización. Los clones se purificaron y valoraron, y sus afinidades de unión (CE_{50}) a las células hBCMA/HEK293 se midieron mediante un ensayo basado en citometría de flujo con el anticuerpo anti-HIS conjugado con fluorocromo. La **Tabla E1** enumera las secuencias de la región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) de clones de ejemplo, que contienen regiones marco conservadas derivadas de V_H3 humana y sus respectivas afinidades de unión (CE_{50}) observadas en este estudio.

Tabla E1. Secuencias de aminoácidos de CDR3 para clones de V_H representativos

Nombre del clon de V_H	Secuencia de CDR3 de cadena pesada (CDR-H3)[a]	Número de identificador de secuencia de CDR-H3	CE_{50} (nM)[b]
V_H-1	VDGPPSFDI	SEQ ID NO: 10	> 100
V_H-2	WSAPTDY	SEQ ID NO: 7	25
V_H-3	VDGDDAFDI	SEQ ID NO: 279	> 100
V_H-4	DPLSWDSSGKGPR	SEQ ID NO: 280	100
V_H-5	ENYDFWSWRYYYDMDV	SEQ ID NO: 281	> 100
V_H-6	VDGPPSYDI	SEQ ID NO: 282	> 100
V_H-7	GDWDDAFDI	SEQ ID NO: 283	> 100
V_H-8	VDGDYVDDY	SEQ ID NO: 9	ND
V_H-9	VDGDYEDY	SEQ ID NO: 284	> 100
V_H-10	DVPSSGDDAFDI	SEQ ID NO: 285	> 100
V_H-11	VDGDDVFDI	SEQ ID NO: 286	> 100
V_H-12	VDGDAFDI	SEQ ID NO: 287	100

[a]De acuerdo con la numeración de Kabat.
[b]ND indica no detectado

Ejemplo 2: Generación y evaluación de anticuerpos anti-BCMA (scFv)

Se identificaron anticuerpos anti-BCMA de ejemplo, se formatearon como fragmentos de anticuerpo monocatenarios (scFv) y se evaluó su unión a BCMA.

A. Selección de bibliotecas y generación de anticuerpos de scFv

Se generaron anticuerpos de scFv anti-BCMA de ejemplo a través de diversas selecciones, llevados a cabo en bibliotecas de anticuerpos humanos de donante normal codificadas por ADNdc presentados en un sistema libre de células. En un enfoque, los miembros de la biblioteca de la región V_H enriquecidos desde una primera ronda de cribado en el enfoque descrito en el Ejemplo 1 se emparejaron por redistribución con miembros de una biblioteca de V_L de un donante humano normal, para generar una biblioteca de scFv, en formato V_H-$(G_4S)_3$-V_L. Las bibliotecas de scFv resultantes se enriquecieron en rondas posteriores de selección para determinar la unión específica a las células HEK293 que expresan BCMA en comparación con las células HEK293 progenitoras.

En otro enfoque, la selección *de novo* se llevó a cabo mediante el cribado de una biblioteca de scFv humanos derivados de donantes normales para determinar la unión específica de BCMA a hBCMA-Fc en presencia o ausencia de elución competitiva con un anticuerpo de scFv de referencia anti-BCMA de ratón (ya sea BCMA-C1, anticuerpo de scFv de V_L-V_H, SEQ ID NO: 328; o BCMA-C2, anticuerpo de scFv de V_H-V_L, SEQ ID NO: 329). Tras al menos 2 rondas de selección, se recuperaron los ligantes de scFv.

La unión específica de los clones de scFv resultantes a células HEK293 que expresaban BCMA, en comparación con las células de control que no expresaban BCMA, se evaluó mediante citometría de flujo con lisado celular bruto traducido *in vitro* o con sobrenadante producido por bacterias. Se analizaron adicionalmente ciertos clones que mostraban preferencia de unión por BCMA.

Los clones de scFv seleccionados se secuenciaron usando cebadores directos e inversos y se purificaron para su posterior caracterización. La **Tabla E2** enumera identificadores de secuencia (SEQ ID NO) correspondientes a

secuencias de aminoácidos (aa) y nucleótidos (nt) del scFv y secuencias de aminoácidos de las correspondientes regiones variables de cadena pesada (V_H) o cadena ligera (V_L), CDR y regiones marco conservadas (FR). Con respecto al clon BCMA-22, el primer resto de la CDR3 de cadena ligera (una cisteína), que se observó que se había heredado de la región marco conservada de estirpe germinal se reemplazó por una serina para generar un scFv adicional, denominado BCMA-23. La **Tabla E2** también establece la secuencia de anticuerpos de referencia anti-BCMA de ratón de ejemplo usados como controles y en estudios de competencia como se describe en los Ejemplos posteriores.

Tabla E2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para Clones de ejemplo

	Cadena pesada			Cadena ligera			scFv	
N.º de clon	**V_H**	**CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3**	**FR de V_H (FR1, 2, 3, 4 Kabat)**	**V_L**	**CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3**	**FR de V_L (FR1, 2, 3, 4, Kabat)**	**aa**	**nt**
BCMA-1	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	116	26, 37, 47 (Kabat) 26, 37, 47 (Chothia) 26, 37, 47 (AbM)	72, 83, 93, 102	128	330
BCMA-2	111	2, 5, 8 (Kabat) 13, 17, 8 (Chothia) 20, 24, 8 (AbM)	60, 65, 68, 71	117	27, 38, 48 (Kabat) 27, 38, 48 (Chothia) 27, 38, 48 (AbM)	73, 84, 94, 103	129	331
BCMA-3	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	118	28, 39, 49 (Kabat) 28, 39, 49 (Chothia) 28, 39, 49 (AbM)	74, 85, 93, 104	130	332
BCMA-4	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	119	29, 40, 50 (Kabat) 29, 40, 50 (Chothia) 29, 40, 50 (AbM)	75, 86, 95, 104	131	333
BCMA-5	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	120	30, 39, 51 (Kabat) 30, 39, 51 (Chothia) 30, 39, 51 (AbM)	76, 85, 93, 105	132	334
BCMA-6	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	121	31, 41, 52 (Kabat) 31, 41, 52 (Chothia) 31, 41, 52 (AbM)	77,87, 96, 104	133	335
BCMA-7	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	122	32, 42, 53 (Kabat) 32, 42, 53 (Chothia) 32, 42, 53 (AbM)	78, 88, 97, 106	134	336
BCMA-8	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	123	30, 39, 54 (Kabat) 30, 39, 54 (Chothia) 30, 39, 54 (AbM)	76, 85, 93, 107	135	337

(continuación)

Tabla E2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para Clones de ejemplo								
	Cadena pesada			**Cadena ligera**			**scFv**	
N.º de clon	**V_H**	**CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3**	**FR de V_H (FR1, 2, 3, 4 Kabat)**	**V_L**	**CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3**	**FR de V_L (FR1, 2, 3, 4, Kabat)**	**aa**	**nt**
BCMA-9	112	2, 5, 9 (Kabat) 13, 17, 9 (Chothia) 20, 24, 9 (AbM)	61, 65, 69, 70	124	33, 43, 55 (Kabat) 33, 43, 55 (Chothia) 33, 43, 55 (AbM)	79, 89, 98, 108	136	338
BCMA-10	113	2, 5, 10 (Kabat) 14, 17, 10 (Chothia) 21, 24, 10 (AbM)	62, 65, 68, 71	125	34, 44, 56 (Kabat) 34, 44, 56 (Chothia) 34, 44, 56 (AbM)	80, 90, 99, 108	137	339
BCMA-11	114	3, 6, 11 (Kabat) 15, 18, 11 (Chothia) 22, 25, 11 (AbM)	63, 66, 69, 71	126	35, 45, 57 (Kabat) 35, 45, 57 (Chothia) 35, 45, 57 (AbM)	81, 91, 100, 108	138	340
BCMA-12	115	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	60, 65, 68, 71	127	36, 46, 58 (Kabat) 36, 46, 58 (Chothia) 36, 46, 58 (AbM)	82, 92, 101, 109	139	341
BCMA-13	247	140, 145, 149 (Kabat) 158, 161, 149 (Chothia) 165, 170, 149 (AbM)	195, 204, 210, 217	257	174, 179, 184 (Kabat) 174, 179, 184 (Chothia) 174, 179, 184 (AbM)	221, 228, 233, 243	268	342
BCMA-14	248	141, 145, 149 (Kabat) 158, 161, 149 (Chothia) 166, 170, 149 (AbM)	196, 204, 211, 218	258	174, 179, 185 (Kabat) 174, 179, 185 (Chothia) 174, 179, 185 (AbM)	221, 228, 234, 109	269	343
BCMA-15	249	141, 145, 150 (Kabat) 158, 161, 150 (Chothia) 166, 170, 150 (AbM)	197, 204, 212, 70	259	174, 179, 186 (Kabat) 174, 179, 186 (Chothia) 174, 179, 186 (AbM)	222, 228, 235, 109	270	344
BCMA-16	250	142, 146, 151 (Kabat) 159, 162, 151 (Chothia) 167, 171, 151 (AbM)	198, 205, 213, 70	260	174, 179, 187 (Kabat) 174, 179, 187 (Chothia) 174, 179, 187 (AbM)	223, 228, 235, 109	271	345
BCMA-17	251	2, 5, 152 (Kabat) 13, 17, 152 (Chothia) 20, 24, 152 (AbM)	199, 206, 69, 219	261	175, 180, 188 (Kabat) 175, 180, 188 (Chothia) 175, 180, 188 (AbM)	224, 229, 237, 109	272	346

(continuación)

Tabla E2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para Clones de ejemplo

	Cadena pesada			Cadena ligera			scFv	
N.º de clon	**V_H**	**CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3**	**FR de V_H (FR1, 2, 3, 4 Kabat)**	**V_L**	**CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3**	**FR de V_L (FR1, 2, 3, 4, Kabat)**	**aa**	**nt**
BCMA-18	252	143, 147, 153 (Kabat) 158, 163, 153 (Chothia) 168, 172, 153 (AbM)	200, 207, 214, 70	262	174, 179, 189 (Kabat) 174, 179, 189 (Chothia) 174, 179, 189 (AbM)	222, 228, 238, 109	273	347
BCMA-19	253	144, 148, 154 (Kabat) 160, 164, 54 (Chothia) 169, 173, 154 (AbM)	201, 208, 215, 220	263	176, 181, 190 (Kabat) 176, 181, 190 (Chothia) 176, 181, 190 (AbM)	225, 230, 239, 244	274	348
BCMA-20	254	3, 6, 155 (Kabat) 15, 18, 155 (Chothia) 22, 25, 155 (AbM)	202, 209, 216, 70	264	177, 182, 191 (Kabat) 177, 182, 191 (Chothia) 177, 182, 191 (AbM)	226, 231, 240, 245	275	349
BCMA-21	255	2, 5, 156 (Kabat) 13, 17, 156 (Chothia) 20, 24, 156 (AbM)	203, 65, 68, 70	265	174, 179, 192 (Kabat) 174, 179, 192 (Chothia) 174, 179, 192 (AbM)	222, 228, 241, 246	276	350
BCMA-22	256	2, 5, 157 (Kabat) 13, 17, 157 (Chothia) 20, 24, 157 (AbM)	60, 65, 68, 70	266	178, 183, 193 (Kabat) 178, 183, 193 (Chothia) 178, 183, 193 (AbM)	227, 232, 242, 246	277	351
BCMA-23	256	2, 5, 157 (Kabat) 13, 17, 157 (Chothia) 20, 24, 157 (AbM)	60, 65, 68, 70	267	178, 183, 194 (Kabat) 178, 183, 194 (Chothia) 178, 183, 194 (AbM)	227, 232, 242, 246	278	352
BCMA-24	518	2, 6, 376 (Kabat) 13, 18, 376 (Chothia) 20, 25, 376 (AbM)	61, 65, 69, 71	534	30, 399, 415 (Kabat) 30, 399, 415 (Chothia) 30, 399, 415 (AbM)	76, 85, 483, 508	558	
BCMA-25	519	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	436, 64, 67, 70	535	380, 400, 416 (Kabat) 380, 400, 416 (Chothia) 380, 400, 416 (AbM)	446, 467, 484, 502	559	716, 717
BCMA-26	115	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	60, 65, 68, 71	536	33, 43, 421 (Kabat) 33, 43, 421 (Chothia) 33, 43, 421 (AbM)	80, 89, 98, 108	560	718, 719

(continuación)

Tabla E2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para Clones de ejemplo								
	Cadena pesada			**Cadena ligera**			**scFv**	
N.º de clon	**V_H**	**CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3**	**FR de V_H (FR1, 2, 3, 4 Kabat)**	**V_L**	**CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3**	**FR de V_L (FR1, 2, 3, 4, Kabat)**	**aa**	**nt**
BCMA-27	520	3, 6, 155 (Kabat) 15, 18, 155 (Chothia) 22, 25, 155 (AbM)	434, 209, 216, 70	264	177, 182, 191 (Kabat) 177, 182, 191 (Chothia) 177, 182, 191 (AbM)	226, 231, 240, 245	561	
BCMA-28	521	3, 372, 376 (Kabat) 15, 514, 376 (Chothia) 22, 510, 376 (AbM)	63, 209, 69, 444	537	381, 401, 417 (Kabat) 381, 401, 417 (Chothia) 381, 401, 417 (AbM)	447, 468, 485, 508	562	
BCMA-29	522	3, 6, 376 (Kabat) 15, 18, 376 (Chothia) 22, 25, 376 (AbM)	63, 209, 69, 71	538	382, 402, 418 (Kabat) 382, 402, 418 (Chothia) 382, 402, 418 (AbM)	448, 469, 486, 503	563	
BCMA-30	523	3, 6, 377 (Kabat) 12, 18, 377 (Chothia) 509, 25, 377 (AbM)	435, 209, 69, 71	539	383, 403, 419 (Kabat) 383, 403, 419 (Chothia) 383, 403, 419 (AbM)	449, 470, 487, 104	564	
BCMA-31	519	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	436, 64, 67, 70	540	384, 39, 54 (Kabat) 384, 39, 54 (Chothia) 384, 39, 54 (AbM)	450, 471, 93, 504	565	
BCMA-32	524	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	437, 65, 68, 71	541	385, 180, 58 (Kabat) 385, 180, 58 (Chothia) 385, 180, 58 (AbM)	451, 472, 488, 109	566	
BCMA-33	525	2, 373, 152 (Kabat) 13, 515, 152 (Chothia) 20, 511, 152 (AbM)	199, 65, 69, 219	261	175, 180, 188 (Kabat) 175, 180, 188 (Chothia) 175, 180, 188 (AbM)	224, 229, 237, 109	567	
BCMA-34	526	3, 6, 11 (Kabat) 15, 18, 11 (Chothia) 22, 25, 11 (AbM)	438, 209, 69, 71	542	386, 404, 420 (Kabat) 386, 404, 420 (Chothia) 386, 404, 420 (AbM)	452, 84, 489, 504	568	
BCMA-35	527	2, 5, 378 (Kabat) 13, 17, 378 (Chothia) 20, 24, 378 (AbM)	61, 65, 69, 70	543	33, 43, 421 (Kabat) 33, 43, 421 (Chothia) 33,43,421 (AbM)	453, 89, 98, 505	569	

(continuación)

Tabla E2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para Clones de ejemplo								
	Cadena pesada			**Cadena ligera**			**scFv**	
N.º de clon	**V_H**	**CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3**	**FR de V_H (FR1, 2, 3, 4 Kabat)**	**V_L**	**CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3**	**FR de V_L (FR1, 2, 3, 4, Kabat)**	**aa**	**nt**
BCMA-36	528	2, 5, 9 (Kabat) 13, 17, 9 (Chothia) 20, 24, 9 (AbM)	199, 65, 69, 70	544	387, 405, 422 (Kabat) 387, 405, 422 (Chothia) 387, 405, 422 (AbM)	454, 473, 490, 109	570	
BCMA-37	529	2, 5, 9 (Kabat) 13, 17, 9 (Chothia) 20, 24, 9 (AbM)	61,65, 441, 70	545	388, 406, 423 (Kabat) 388, 406, 423 (Chothia) 388, 406, 423 (AbM)	455, 474, 491, 109	571	
BCMA-38	528	2, 5, 9 (Kabat) 13, 17, 9 (Chothia) 20, 24, 9 (AbM)	199, 65, 69, 70	546	388, 407, 424 (Kabat) 388, 407, 424 (Chothia) 388, 407, 424 (AbM)	456, 474, 492, 109	572	
BCMA-39	522	3, 6, 376 (Kabat) 15, 18, 376 (Chothia) 22, 25, 376 (AbM)	63, 209, 69, 71	547	389, 408, 425 (Kabat) 389, 408, 425 (Chothia) 389, 408, 425 (AbM)	457, 475, 493, 103	573	
BCMA-40	256	2, 5, 157 (Kabat) 13, 17, 157 (Chothia) 20, 24, 157 (AbM)	60, 65, 68, 70	548	390, 183, 193 (Kabat) 390, 183, 193 (Chothia) 390, 183, 193 (AbM)	227, 232, 242, 108	574	
BCMA-41	530	2, 374, 9 (Kabat) 13, 516, 9 (Chothia) 20, 512, 9 (AbM)	199, 65, 68, 70	549	391, 409, 426 (Kabat) 391, 409, 426 (Chothia) 391, 409, 426 (AbM)	458, 476, 494, 109	575	584
BCMA-42	531	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	439, 64, 67, 70	550	392, 40, 427 (Kabat) 392, 40, 427 (Chothia) 392, 40, 427 (AbM)	459, 477, 495, 506	576	
BCMA-44	519	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	436, 64, 67, 70	552	394, 39, 429 (Kabat) 394, 39, 429 (Chothia) 394, 39, 429 (AbM)	461, 85, 93, 107	578	
BCMA-45	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	553	395, 411, 430 (Kabat) 395, 411, 430 (Chothia) 395, 411, 430 (AbM)	462, 479, 497, 105	579	

(continuación)

Tabla E2. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para Clones de ejemplo

	Cadena pesada			Cadena ligera			scFv	
N.º de clon	**V_H**	**CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3**	**FR de V_H (FR1, 2, 3, 4 Kabat)**	**V_L**	**CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3**	**FR de V_L (FR1, 2, 3, 4, Kabat)**	**aa**	**nt**
BCMA-46	110	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	118	28, 39, 49 (Kabat) 28, 39, 49 (Chothia) 28, 39, 49 (AbM)	74, 85, 93, 104	130	
BCMA-47	533	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	197, 65, 443, 445	554	396, 412, 431 (Kabat) 396, 412, 431 (Chothia) 396, 412, 431 (AbM)	463, 480, 498, 108	580	
BCMA-48	115	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	60, 65, 68, 71	555	396, 412, 58 (Kabat) 396, 412, 58 (Chothia) 396, 412, 58 (AbM)	464, 480, 499, 109	581	
BCMA-49	524	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	437, 65, 68, 71	556	397, 413, 432 (Kabat) 397, 413, 432 (Chothia) 397, 413, 432 (AbM)	465, 481, 500, 109	582	
BCMA-51	519	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	436, 64, 67, 70	557	398, 414, 433 (Kabat) 398, 414, 433 (Chothia) 398, 414, 433 (AbM)	466, 482, 501, 508	583	

Se purificaron y valoraron clones de ejemplo, y se sometió a ensayo su afinidad de unión (CE_{50}) a hBMCA: BCMA-1, BCMA-2, BCMA-3, BCMA-4, BCMA-5, BCMA-6, BCMA-7, BCMA-8, BCMA-9, BCMA-10, BCMA-11, BCMA-12, BCMA-13, BCMA-14, BCMA-14, BCMA-15, BCMA-16, BCMA-17, BCMA-18, BCMA-19, BCMA-20, BCMA-21, BCMA-22, BCMA-23, BCMA-24, BCMA-25, BCMA-26, BCMA-27, BCMA-28 y BCMA-29. También se evaluaron otros anticuerpos de scFv anti-BCMA (véase la **Tabla E3),** tales como scFv que contenían secuencias de V_H y V_L de anticuerpos descritos en el documento WO2016090327, y scFv que contenían secuencias de V_H y V_L de anticuerpos contra BCMA descritos en el documento WO2010104949.

Tabla E3. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para Anticuerpos anti-BCMA de ejemplo

						Cadena pesada	Cadena ligera	scFv
N.º de clon	**V_H**	**CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3**	**FR de V_H (FR1, 2, 3, 4 Kabat)**	**V_L**	**CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3**	**FR de V_L (FR1, 2, 3, 4, Kabat)**	**aa**	**nt**
BCMA-52	609	507, 513, 517 (Kabat) 532, 551, 517(Chothia) 577, 587, 517 (AbM) 604, 605, 606		610	589, 590, 591 (Kabat) 589, 590, 591 (Chothia) 589, 590, 591 (AbM) 607, 608, 591		442	647, 440

(continuación)

Tabla E3. Identificador de secuencia (SEQ ID NO) para Anticuerpos anti-BCMA de ejemplo								
						Cadena pesada	**Cadena ligera**	**scFv**
N.º de clon	**V_H**	**CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3**	**FR de V_H (FR1, 2, 3, 4 Kabat)**	**V_L**	**CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3**	**FR de V_L (FR1, 2, 3, 4, Kabat)**	**aa**	**nt**
BCMA-55	617	593, 594, 595 (Kabat) 596, 597, 595 (Chothia) 598, 599, 595 (AbM) 611, 612, 613		618	601, 602, 603 (Kabat) 601, 602, 603 (Chothia) 601, 602, 603 (AbM) 614, 615, 603		478	648, 460
BCMA-C1, V_H-V_L	324	288, 290, 292 (Kabat) 294, 296, 292 (Chothia) 298, 300, 292 (AbM)	308, 310, 312, 314	326	302, 304, 306 (Kabat) 302, 304, 306 (Chothia) 302, 304, 306 (AbM)	316, 318, 320, 322	585	
BCMA-C1, V_L-V_H	324	288, 290, 292 (Kabat) 294, 296, 292 (Chothia) 298, 300, 292 (AbM)	308, 310, 312, 314	326	302, 304, 306 (Kabat) 302, 304, 306 (Chothia) 302, 304, 306 (AbM)	316, 318, 320, 322	328	
BCMA-C2, V_H-V_L	325	289, 291, 293 (Kabat) 295, 297, 293 (Chothia) 299, 301, 293 (AbM)	309, 311, 313, 315	327	303, 305, 307 (Kabat) 303, 305, 307 (Chothia) 303, 305, 307 (AbM)	317, 319, 321, 323	329	
BCMA-C2, V_L-V_H	325	289, 291, 293 (Kabat) 295, 297, 293 (Chothia) 299, 301, 293 (AbM)	309, 311, 313, 315	327	303, 305, 307 (Kabat) 303, 305, 307 (Chothia) 303, 305, 307 (AbM)	317, 319, 321, 323	586	

Ejemplo 3: Generación de receptores de antígenos quiméricos (CAR) contra BCMA y células que expresan CAR anti-BCMA

Se generaron polinucleótidos que codificaban receptores de antígenos quiméricos (CAR) de ejemplo, cada uno de los cuales contenía un dominio de unión a antígeno de scFv anti-BCMA humano. Entre los scFv anti-BCMA humano se encontraban aquellos descritos en el Ejemplo 2. Entre los CAR generados también había CAR que contenían scFv con secuencias VH y VL de anticuerpos descritos en el documento WO2016090327. También se generaron CAR anti-BCMA que contenían scFv con secuencias de VH y VL de anticuerpos contra BCMA descritos en el documento WO2010104949. En algunos casos del scFv, la V_H era aminoterminal con respecto a la V_L y en algunos casos la V_L era aminoterminal con respecto a la V_H. Las regiones de scFv en los CAR generados se exponen en la **Tabla E4.**

Específicamente, las construcciones de CAR polinucleotídicas de ejemplo contenían ácido nucleico que codificaba una secuencia de señalización de IgG-kappa humana (SEQ ID NO: 619, que codifica la SEQ ID NO: 620), un scFv anti-BCMA humano (SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-277, 442, 478 y 558-563), un espaciador (tal como un espaciador que contenía una bisagra C_H2-C_H3 de IgG4 modificada (SEQ ID NO: 621, que codifica la SEQ ID NO: 649) (cuyo espaciador puede denominarse en algunos casos "LS") o, en algunos casos, un espaciador más corto (que puede denominarse "SS"), tal como uno derivado de una región bisagra de IgG, tal como una región bisagra derivada de IgG4 o una forma modificada de la misma, o derivada de un dominio extracelular CD28; un dominio transmembrana de CD28 humano; una secuencia de coseñalización intracelular derivada de 4-1BB humano; y un dominio de señalización intracelular derivado de CD3-zeta humano. Entre los espaciadores de ejemplo se incluyen los derivados de una región bisagra de IgG4 (tales como los codificados por, por ejemplo, la SEQ ID NO: 364, y/o que contienen la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 363) y espaciadores derivados del ectodominio CD28 tales como los codificados por, por ejemplo, la secuencia de la SEQ ID NO: 629 y/o los que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 630.

También se generó un polinucleótido que codifica otra construcción de CAR que contiene ácido nucleico que codifica una secuencia señal de IgG-kappa humana (SEQ ID NO: 619, que codifica la SEQ ID NO: 620), un scFv anti-BCMA de ratón (SEQ ID NO: 328 (BCMA-C1; V_L-V_H), 329 (BCMA-C2; V_H-V_L), 585 (BCMA-C1; V_H-V_L) o 586 (BCMAC-2; V_L-V_H)), un espaciador (SEQ ID NO: 621, que codifica la SEQ ID NO: 649), un dominio transmembrana CD28 humano, una secuencia de coseñalización intracelular humana derivada de 4-1BB, y un dominio de señalización intracelular derivado de CD3-zeta.

Tabla E4. Secuencias de clones de scFv de V_H-V_L de ejemplo (SEQ ID NO)

Construcción	Región variable de cadena pesada (V_H)	Región variable de cadena ligera (V_L)	VH-VL o scFv de VL-VH	
	Aminoácido	Aminoácido	Nucleótido	Aminoácido
BCMA-1	110	116	330	128
BCMA-2	111	117	331	129
BCMA-3	110	118	332	130
BCMA-5	110	120	334	132
BCMA-6	110	121	335	133
BCMA-9	112	124	338	136
BCMA-10	113	125	339	137
BCMA-14	248	258	343	269
BCMA-18	252	262	347	273
BCMA-19	253	263	348	274
BCMA-20	254	264	349	275
BCMA-21	255	265	350	276
BCMA-22	256	266	351	277
BCMA-23	256	267	352	278
BCMA-24	518	534		558
BCMA-25	519	535		559
BCMA-26	115	536		560
BCMA-27	520	264		561
BCMA-28	521	537		562
BCMA-29	522	538		563
BCMA-52	609	610	647	442
BCMA-55	617	618	648	478
BCMA-C1, VH-VL	324	326		585
BCMA-C1, VL-VH	324	326		328
BCMA-C2, VH-VL	325	327		329
BCMA-C2, VL-VH	325	327		586

Se unieron clones de ADNc que codifican dichos CAR a un elemento de omisión ribosómico en dirección 3' (tal como la secuencia codificante de T2A SEQ ID NO: 686 o 687, que codifica la SEQ ID NO: 654) seguida de una secuencia truncada codificante del receptor, y clonada en un vector de expresión lentivírico.

Para generar linfocitos T que expresasen CAR anti-BCMA, los linfocitos T se aislaron mediante enriquecimiento por inmunoafinidad a partir de muestras de leucocitaféresis de donantes humanos. Se activaron linfocitos T aislados y se transdujeron con vectores lentivíricos que contenían los respectivos polinucleótidos que codificaban los CAR anti-BCMA. Tras la transducción y la expansión, los linfocitos T CD4+ y CD8+ se tiñeron con un anticuerpo específico para

el receptor truncado y con un BCMA humano recombinante marcado con fluorescencia y se analizaron mediante citometría de flujo, confirmando la transducción de las células y la expresión de los CAR anti-BCMA.

Ejemplo 4: Evaluación de la posible heterogeneidad y modificación del ARN

Se analizó la heterogeneidad del ARN de células transducidas con CAR anti-BCMA de ejemplo como se describe en el Ejemplo 3 mediante electroforesis en gel de agarosa, después de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) usando cebadores específicos para el promotor y la WPRE en dirección 3' en la UTR 5' y UTR 3' de los transcritos CAR de ejemplo. Se observaron múltiples bandas para varias construcciones de CAR anti-BCMA que contenían un espaciador de ejemplo que incluía una región de bisagra modificada C_H2-C_H3 de IgG (CAR de BCMA-LS) **(FIG. 1A),** indicando heterogeneidad del ARN. Se observó una menor heterogeneidad del ARN en los CAR de ejemplo que contenían un espaciador más corto, tal como la que incluía una porción de una región extracelular CD28 humana (véase, por ejemplo, CAR de BCMA-52-SS).

En las secuencias de nucleótidos que codifican varios CAR de BCMA-LS se evaluaron posibles sitios de corte y empalme y se modificaron de forma conservadora, incluyendo la eliminación de posibles sitios de corte y empalme previstos. Las secuencias anteriores a la modificación (secuencia de partida) y las posteriores a la modificación (secuencias optimizadas) se sometieron a análisis para evaluar la presencia de posibles sitios de corte y empalme crípticos. Los sitios donantes de corte y empalme y los sitios aceptores de corte y empalme se evaluaron independientemente. Se identificaron sitios donantes de corte y empalme y aceptores de corte y empalme de ejemplo de las secuencias de partida de varias regiones de la construcción (por ejemplo en la región promotora y en la región espaciadora larga). Se identificaron sitios donantes de corte y empalme y sitios aceptores de corte y empalme de ejemplo dentro de la región espaciadora larga tras la optimización inicial de codones que tenía una puntuación de sitios de corte y empalme de > 0,7 (> 70 %), por ejemplo, los sitios donantes expuestos en la SEQ ID NO: 693 (puntuación de sitios de corte y empalme de 0,96) y 708 (puntuación de sitios de corte y empalme de 0,97), respectivamente. Se generaron construcciones modificadas que contenían modificaciones adicionales dentro de regiones evaluadas con una puntuación de sitios de corte y empalme de > 0,7 (> 70 %) tras la optimización inicial de codones (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 855 para una secuencia espaciadora inicial de ejemplo con codones optimizados) con el fin de reducir el potencial de sitios de corte y empalme no deseados. Entre dichas regiones modificadas tras la optimización de codones/eliminación de sitios de corte y empalme se encontraban aquellas dentro de secuencias de regiones espaciadoras más largas, por ejemplo, las secuencias finales del sitio de corte y empalme optimizado eliminado (O/SSE) del sitio donante de corte y empalme y del sitio aceptor de corte y empalme se exponen en las SEQ ID NO: 662 y 672, respectivamente.

Se construyeron las secuencias modificadas y se comprobó la heterogeneidad del ARN como se ha descrito anteriormente. La electroforesis confirmó la reducción de la heterogeneidad del ARN. El análisis de las construcciones de BCMA-CAR antes y después de la eliminación de sitios de corte y empalme demostró una menor heterogeneidad del ARN **(FIG. 1B)**. Se generaron construcciones de CAR O/SSE de ejemplo que contenían las modificaciones de la región espaciadora larga, por ejemplo, CAR de BCMA-23-LS-O/SSE, CAR de BCMA-25-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, CAR de BCMA-52-LS-O/SSE y CAR de BCMA-55-LS-O/SSE.

Ejemplo 5: Evaluación de la expresión y función de CAR en linfocitos T primarios

Se transdujeron construcciones lentivíricas que contenían polinucleótidos codificantes de CAR anti-BCMA con secuencias de partida y optimizadas, respectivamente, como se describe en el Ejemplo 3, en linfocitos T y se analizó la transducción de las células transducidas (basándose en la expresión de un marcador indirecto) y la expresión de CAR basándose en la unión a la proteína de fusión BCMA-Fc recombinante mediante citometría de flujo. Un mayor porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+ transducidos usando las secuencias optimizadas, CAR de BCMA-52-LS-O/SSE y CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, expresaban el CAR anti-BCMA en la superficie, en comparación con las células transducidas para expresar el mismo CAR correspondiente mediante el polinucleótido que tiene la secuencia de partida (sin SSE). Los datos representativos se exponen en la FIG 2 y en la **Tabla E5** a continuación.

Tabla E5. Porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+ que expresan CAR anti-BCMA

	BCMA-25	**BCMA-25-O/SSE**	**BCMA-52**	**BCMA-52-O/SSE**	**BCMA-55**	**BCMA-55-O/SSE**
Linfocitos T CD4+	17,9	64,9	36,4	69,6	44,1	50,2
Linfocitos T CD8+	17,7	61,7	31,8	62,4	36,5	43,4

Se usaron varios volúmenes de preparaciones víricas que contenían vectores lentivíricos que codificaban construcciones de CAR, CAR de BCMA-23-LS, CAR de BCMA 26-LS, CAR de BCMA 55-LS y CAR de BCMA 55-LS-O/SSE, para transducir 500.000 linfocitos T humanos primarios derivados de donantes y se comparó la eficacia de la transducción. El porcentaje de transducción de linfocitos T aumentó tras la transducción mediante secuencias optimizadas **(FIG. 3,** círculos) en comparación con las secuencias de partida **(FIG. 3,** triángulos).

Ejemplo 6: Caracterización de scFv de BCMA-52 y BCMA-55

A. Tinción inmunohistoquímica de tejidos

Se evaluaron células y tejidos que expresaban niveles variables de BCMA mediante inmunohistoquímica para determinar la unión de anticuerpos anti-BCMA de ejemplo. Se evaluaron dominios de unión (scFv) de CAR humanos de ejemplo dirigidos a BCMA, que se habían fusionado con un péptido de la región Fc de IgG1 de ratón, para determinar la unión a células y tejidos mediante inmunohistoquímica.

B. Evaluación de la cinética de unión

Un CAR con un dominio de unión de scFv derivado de BCMA-55, un espaciador de bisagra C_H2-C_H3 modificado derivado de IgG, un dominio transmembrana de CD28 y 41BB y el endodominio CD3zeta, en una estirpe de linfocitos T Jurkat. La cinética de unión del CAR al BCMA-hFc humano recombinante (rhBCMA hFc) se evaluó mediante un ensayo de exclusión cinética. También se evaluó la afinidad de unión de una proteína de fusión Fc que contenía la porción scFv del CAR (scFv-Fc) a la proteína de fusión de BCMA humano recombinante mediante un ensayo basado en Biacore. En estos estudios, la K_D para la unión por el CAR y la fusión scFv-Fc, respectivamente, fue de aproximadamente 1 nM y 10 nM.

En un experimento adicional, se transdujeron células Jurkat con un polinucleótido que codificaba un CAR con un dominio de unión scFv derivado de BCMA-55 y se cultivaron a una densidad de ~2 × 10^6. Se cosecharon las células y se centrifugaron a 1500g durante 15 minutos a 4 °C. El sedimento celular se lavó y las células se resuspendieron y se diluyeron en serie en 20 nM o 1 nM de hFc rhBCMA biotinilado (también se denomina en este ensayo compañero de unión constante (CBP)). Después del equilibrado, las células se centrifugaron y se recogieron los sobrenadantes para el análisis de exclusión cinética KinExa. Brevemente, los sobrenadantes de células Jurkat que expresaban CAR de BCMA-55-LS O/SSE equilibradas que contenían hFc de rhBCMA se hicieron fluir sobre una celda de flujo de perlas de estreptavidina para capturar hFc de rhBCMA biotinilado libre. A continuación, se detectó el rhBCMA usando un anticuerpo secundario anti-hBCMA marcado con fluorescencia. La absorbancia del hFc de rhBCMA detectado se registró para cada muestra y se representó gráficamente frente al número de células en cada dilución (Darling (2004) Assay Drug. Dev., 2:647-657). En este estudio, la K_D para la interacción de las células que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE con rhBCMA hFc en este ensayo se determinó que era de aproximadamente 1,46 nM, y el nivel de expresión (NE) se determinó que era de aproximadamente 146.500 CAR por célula Jurkat que expresaba CAR.

C. Selectividad de scFv-Fc de BCMA-55

Se usó un ensayo de matriz proteómica de membrana (MPA) para evaluar la especificidad de unión del dominio de unión derivado de BCMA-55, usando una proteína de fusión scFv-Fc. Las interacciones de BCMA-55-Fc con células HEK293 que expresan más de 4400 proteínas extracelulares humanas únicas, que representan más del 85 % del proteoma extracelular humano, y una proteína fluorescente se evaluaron usando la plataforma Retrogenix™. Se detectó proteína fluorescente para verificar la transfección, y CTLA4-Fc (probado a 0,2 µg/ml), que contenía un Fc emparejado, se usó también para cribar CD86 como control positivo. Un primer cribado consistió en un ensayo de unión de scFv para BCMA-55-scFv frente al panel completo de proteínas. A continuación, se realizó una continuación del cribado de confirmación para volver a ensayar la interacción de BCMA-55-Fc con un subconjunto de posibles coincidencias identificadas en el cribado inicial. BCMA se identificó como el único acierto fuerte y específico en este ensayo, coherente con la conclusión de que este dominio de unión es altamente selectivo para BCMA frente a otras proteínas extracelulares. Se observó una señal de bajo nivel para la catepsina G (CTSG), pero se observó que no confería actividad funcional (véase el Ejemplo 16).

Ejemplo 7: Evaluación funcional *in vitro* de linfocitos T modificados por ingeniería para expresar diversos receptores de antígenos quiméricos (CAR) anti-BCMA

Se evaluaron *in vitro* linfocitos T humanos modificados por ingeniería genética que expresaban varios CAR anti-BCMA de ejemplo después del cocultivo con células diana que expresaban BCMA. Se transdujeron linfocitos T con CAR de BCMA-52-LS, CAR de BCMA-55-LS, CAR de BCMA-52-LS-O/SSE o CAR de BCMA-55-LS-O/SSE). Las respuestas se compararon con las células de referencia que expresaban CAR anti-BCMA como control positivo o con células procesadas con simulación como control negativo.

A. Actividad citolítica contra las células diana

Las células diana que expresaban BCMA se incubaron con linfocitos T que expresaban el CAR de BCMA-52-LS, CAR de BCMA-55-LS o un CAR anti-BCMA de referencia en una relación efector/diana (E:T) de 5:1, 2,5:1, 1,25:1 y 0,65:1. Como control, se incubaron células diana con linfocitos T que no expresaban un CAR (control simulado). Específicamente, se usaron como dianas para la lisis células K562 transducidas con BCMA (K562/BCMA, $BCMA^{alto}$) o células RPMI 8226 (estirpe celular de mieloma múltiple humano $BCMA^{bajo}$). Las células diana se marcaron con NucLight Red (NLR) para permitir su seguimiento mediante microscopía. La actividad citolítica se evaluó midiendo la

pérdida de células diana viables durante un periodo de entre 24 y 72 horas, según lo determinado por la señal fluorescente roja (usando el sistema de análisis de células vivas IncuCyte®, Essen Bioscience). El porcentaje de lisis (% de Lisis) se normalizó con respecto a la lisis que se produjo en las células diana incubadas con linfocitos T procesados de forma simulada. Como se muestra en la **FIG. 4A,** los linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA presentaron actividad citolítica antígeno-específica frente a linfocitos BCMA+. La magnitud de la lisis celular difería en función de la estirpe celular particular y del CAR.

En un experimento distinto, la actividad citolítica se probó con células diana RPMI 8226 en una relación E:T de 3:1. Como se muestra en la **Figura 4B**, las células que expresaban BCMA-52-LS- y BCMA-55-LS-CAR mostraron aproximadamente un 70 % de lisis, normalizada con respecto a la lisis por células procesadas en simulación que no expresan un CAR, mientras que las células que expresan el CAR que contenía el dominio de unión del anticuerpo anti-BCMA de referencia mostraron aproximadamente un 50 % de lisis. Por lo tanto, los resultados mostraron que la actividad citolítica de las células modificadas por ingeniería para expresar los CAR BCMA-52 o BCMA-55 era similar o superior a la de los CAR con dominio de unión de referencia.

Para comparar la actividad citolítica de linfocitos T modificados por ingeniería con el mismo CAR codificado por una construcción de CAR sin modificar o una construcción de CAR optimizada, se modificaron por ingeniería linfocitos T para expresar un CAR anti-BCMA usando un vector vírico que contenía una construcción polinucleotídica no modificada (CAR de BCMA-52-LS y CAR de BCMA-55-LS) o una construcción polinucleotídica optimizada (CAR de BCMA-52-LS-O/SSE y CAR de BCMA-55-LS-O/SSE). La actividad citolítica de las células modificadas se ensayó sustancialmente como se ha descrito anteriormente. Los linfocitos T que expresaban CAR se incubaron con células diana, K562-BCMA, RPMI 8226, células MM1.S (estirpe celular de mieloma múltiple humano $BCMA^{med}$) o células OPM2 (estirpe celular de mieloma múltiple humano $BCMA^{med}$), a una relación E:T de 3:1. Como se muestra en la **FIG. 4C** y la **FIG. 4D,** las células que expresaban CAR transducidas con una construcción de CAR CO/SSE presentaron una mayor actividad citolítica en comparación con las células transducidas con la construcción correspondiente sin modificar.

B. Liberación de citocinas

La liberación de citocinas se evaluó después de la incubación de las distintas células que expresaban CAR anti-BCMA con células diana que expresaban antígenos.

Se incubaron células diana que expresaban BCMA, K562/BCMA o células RPMI 8226, con linfocitos T que expresaban el CAR de BCMA-52-LS, CAR de BCMA-55-LS o un CAR anti-BCMA con dominio de unión de referencia en una relación E:T de 5:1, 2,5:1, 1,25:1 o 0,6:1. Como control, se incubaron células diana con linfocitos T que no expresaban un CAR (control simulado). Las células cocultivadas se incubaron durante aproximadamente 24 horas y después se recogieron los sobrenadantes para la medición de IFN-γ, TNF-α y IL-2, usando un inmunoensayo múltiple de citocinas. Como se muestra en la **FIG. 5A,** los linfocitos T anti-BCMA que expresaban CAR produjeron citocinas tras la estimulación con antígenos.

Para evaluar la producción de citocinas dependientes de antígeno de linfocitos T modificados por ingeniería con el mismo CAR codificado por una construcción de CAR sin modificar o una construcción de CAR optimizada, se modificaron por ingeniería linfocitos T para expresar un CAR anti-BCMA usando un vector vírico que contenía una construcción polinucleotídica no modificada (CAR de BCMA-52-LS y CAR de BCMA-55-LS) o una construcción polinucleotídica optimizada (CAR de BCMA-52-LS-O/SSE y CAR de BCMA-55-LS-O/SSE). Se incubaron linfocitos T que expresaban CAR con células diana, ya sea K562/BCMA, células RPMI 8226, MM1S (estirpe celular de mieloma múltiple humano $BCMA^{med}$) o células OPM2 (estirpe celular de mieloma múltiple humano $BCMA^{med}$), a una relación E:T de 3:1, 1,5:1, 0,75:1 y 0,375:1. La producción de citocinas IFN-γ, TNF-α e IL-2 se evaluó como se ha descrito anteriormente. Como se muestra en la **Figura 5B**, se observó que las células que expresaban CAR transducidas usando construcciones optimizadas O/SSE presentaban una mayor producción de citocinas en comparación con las células transducidas con la construcción correspondiente sin modificar (de partida).

C. Actividad citolítica, Liberación de citocinas y proliferación en respuesta a dianas que expresan diferentes niveles de antígeno en su superficie

La actividad citolítica, la liberación de citocinas y la proliferación se evaluaron después de la incubación de linfocitos T que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE con células que expresaban diferentes niveles de BCMA. Toda la actividad se evaluó en presencia o ausencia de BCMA soluble.

Una relación 1:1 de linfocitos T primarios CD4+ y CD8+, recogidos de dos donantes humanos (D N.º 1 y D N.º 2), se estimularon con perlas CD3/CD28 y se transdujeron con un vector lentivírico para expresar de forma estable CAR de BMCA-55. Las células transducidas se cultivaron en presencia de células diana que expresaban BCMA en una relación E:T de 1:3, 1:1 o 3:1. También se mezclaron linfocitos T procesados simulados de los mismos donantes con células diana para su uso como control. Las células diana BCMA+, Daudi, RPMI-8226 y K562-BCMA, presentaron diferentes niveles de densidad de antígeno BCMA de la superficie (densidad de antígeno: Daudi (<1000 moléculas de BCMA/célula) < RPMI-8226 < K562-BCMA) y se tiñeron con éster succinimidílico de carboxifluoresceína (CFSE) antes

de la incubación con los linfocitos T. Un número igual de células diana negativas, que no expresaban BCMA y se tiñeron con violeta de rastro celular (CTV), también se incluyeron en los cultivos con los linfocitos T y las células diana BCMA+. Después de una incubación de 24 horas, las células diana BCMA+ frente a BCMA- restantes se midieron mediante citometría de flujo, y el grado de lisis de las células diana, indicativo de citotoxicidad, se evaluó.

Los linfocitos T CAR de BCMA-55-LS-O/SSE mostraron una actividad citolítica similar cuando se cultivaron con células diana, independientemente de los niveles de expresión de BCMA **(FIG. 6).** Adicionalmente, se observaron resultados similares en las células diana (NCI-H929) que expresaban más de 100.000 moléculas por célula. Los linfocitos T procesados de forma simulada no mostraron actividad contra ninguna de las estirpes de células diana BCMA+. Las células diana negativas para la expresión de BCMA no fueron lisadas por los linfocitos T CAR de BCMA-55-LS-O/SSE de ninguno de los donantes analizados (datos no mostrados).

Los sobrenadantes que siguieron a la incubación se analizaron en busca de citocinas IFN-γ, TNF-α e IL-2 acumuladas. Los datos eran coherentes con la conclusión de que los linfocitos T CAR de BCMA-55-LS-O/SSE habían liberado una serie de citocinas tras la interacción con las células diana que expresaban BCMA; el nivel de citocinas liberadas suele corresponderse con el aumento del nivel de antígeno (es decir, Daudi < RPMI 8226 < K562-BCMA). Los resultados para IFN-γ se muestran en la **FIG. 7;** se observaron datos similares para el TNF-α y la IL-2 (datos no mostrados). Los linfocitos T CAR de BCMA-55-LS O/SSE no liberaron citocinas en respuesta a dianas BCMA negativas, ni expresaron citocinas sin que estuviera presente ninguna célula diana, demostrando especificidad por las células diana BCMA+ y ausencia de señalización tónica.

Se evaluó la actividad de los linfocitos T que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE en presencia frente a ausencia de BCMA soluble. Se cocultivaron linfocitos T que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE con células tumorales RPMI-8226, con BCMA-Fc recombinante, o con sobrenadante de cultivo celular derivado de células de mieloma múltiple NCI-H929 (estirpe celular secretora de BCMA, conteniendo el sobrenadante BCMA soluble). No se observó que ni la lisis de células tumorales ni la producción de citocinas se vieran afectadas por cualquiera de las concentraciones de BCMA soluble derivado de NCI-H929 (hasta 1000 ng/ml). Tanto la lisis de células tumorales como la producción de citocinas disminuyeron mínimamente a niveles fisiológicos igualmente elevados de BCMA recombinante.

Se midió la proliferación en respuesta a BCMA en linfocitos T que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE y en linfocitos T procesados de forma simulada. Los linfocitos T transducidos se marcaron con violeta de rastreo celular (CTV) y se cultivaron en presencia de células diana BCMA positivas, células diana negativas para BCMA o ninguna célula, a una relación efector/diana (E:T) de 1:1, durante 72 horas. La proliferación se midió mediante citometría de flujo. La proliferación de linfocitos T (linfocitos T CD4+ y CD8+) sólo se observó en los linfocitos T que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE en respuesta a la incubación con células diana positivas para BCMA.

D. Linfocitos T transducidos obtenidos de donantes sanos y de un paciente con mieloma

Los linfocitos T modificados por ingeniería para expresar CAR de BCMA-55-LS-O/SSE obtenidos de pacientes con mieloma múltiple se compararon con los derivados de donantes humanos sanos tras una incubación de 24 horas con células diana BCMA+ y BCMA- K562. También se evaluaron los linfocitos T que no expresaban un CAR como control negativo. Los linfocitos T CAR derivados de pacientes con mieloma múltiple demostraron una expresión, expansión y actividades específicas de antígeno similares en comparación con las células que expresan el CAR derivadas de donantes humanos sanos.

Ejemplo 8: CAR anti-BCMA con diferentes espaciadores

Se generaron construcciones polinucleotídicas que codificaban CAR anti-BCMA que contenían diferentes regiones espaciadoras entre los segmentos scFv y transmembrana del polipéptido CAR codificado. Específicamente, se generaron CAR que contenían: (1) un espaciador derivado de una región bisagra de IgG (por ejemplo, por ejemplo, BCMA-5-SS, BCMA-9-SS, BCMA-18-SS, BCMA-23-SS, BCMA-25-SS, BCMA-26-SS, BCMA-52-SS, BCMA-55-SS y Referencia1 (VH/VL)-SS); o (2) un espaciador corto derivado del ectodominio de CD28 (por ejemplo, BCMA-52-SCD28 y BCMA-55-SCD28). Los linfocitos T que expresaban dichos CAR que contenían espaciadores se compararon con linfocitos T transducidos con construcciones polinucleotídicas que codificaban CAR de ejemplo que contenían espaciadores como se describe en el Ejemplo 3 (por ejemplo, BCMA-1-LS, BCMA-5-LS, BCMA-9-LS, BCMA-18-LS, BCMA-23-LS, BCMA-25-LS, BCMA-26-LS, BCMA-27-LS, BCMA-52-LS, BCMA-55-LS y Referencia1 (VH/VL)-LS).

Se evaluó la actividad citolítica de las células que expresaban CAR controlando la lisis de células diana de mieloma múltiple humano OPM2 cultivadas con linfocitos T que expresaban CAR en una relación efector/diana (E:T) de 1,25:1 y 0,65:1. Las células que no expresaban un CAR (simulación) se usaron como control negativo. La actividad citolítica se evaluó como se ha descrito en el Ejemplo 7. Para la mayoría de las células CAR evaluadas, la lisis de la célula diana fue mayor para las células modificadas por ingeniería para expresar un CAR que contenía un espaciador de bisagra C_H2-C_H3 en comparación con las células modificadas por ingeniería con un CAR que contenía un espaciador más corto **(FIG. 8)**.

Ejemplo 9: Evaluación de los agentes sobre la Actividad de bloqueo de la actividad de CAR anti-BCMA

La función de las células que expresaban CAR anti-BCMA se evaluó después de la incubación con células diana que expresaban BCMA y BCMA soluble u otras proteínas. La actividad citolítica y la producción de citocinas se evaluaron sustancialmente como se describe en el Ejemplo 7.

A. Actividad citolítica

1. BCMA recombinante soluble (rBCMA) - Células diana OPM2

Se incubaron linfocitos T que expresaban CAR anti-BCMA, CAR de BCMA-52-LS, CAR de BCMA-55-LS o CAR con dominio de unión de referencia, con células diana OPM2 en una relación E:T de 5:1 en presencia de BCMA soluble-Fc a 0, 0,3, 3, 30 o 300 ng/ml. Como se muestra en la **FIG. 9A**, la actividad citolítica de los linfocitos T que expresaban el CAR que contenía el dominio de unión de referencia o el CAR de BCMA-52-LS se redujo sustancialmente en presencia de 3 ng/ml o más de BCMA-Fc, sin embargo, la actividad citolítica de las células que expresaban CAR de BCMA-55-LS no se vio bloqueada por la presencia de hasta 300 ng/ml de BCMA-Fc.

En otro experimento, Se incubaron linfocitos T que expresaban CAR anti-BCMA (CAR de BCMA-1-LS, CAR de BCMA-9-LS, CAR de BCMA-23-LS, CAR de BCMA-25-LS, CAR de BCMA-26-LS, CAR de BCMA-55-LS y Referencia1 (VH/VL)-LS CAR) con células diana OPM2 en una relación E:T de 5:1 en presencia de BCMA soluble-Fc a concentraciones de 0, 7,8, 15,6, 31,3, 62,5, 125, 250, 500 y 1000 ng/ml. Como se muestra en la **FIG. 9B**, la actividad citolítica de las células que expresaban BCMA-55-CAR no se vio bloqueada por la presencia de BCMA-Fc en cualquiera de las concentraciones probadas; sin embargo, la presencia de concentraciones variables de BCMA-Fc bloqueó la actividad de las células que expresaban otros CAR anti-BCMA en distinta medida.

2. Sobrenadante de estirpe celular de mieloma múltiple (H929) - Células diana OPM2

Se incubaron linfocitos T optimizados y con eliminación de sitios de empalme (O/SSE) que expresaban CAR anti-BCMA, CAR de BCMA-52-LS-O/SSE, CAR de BCMA-55-LS-O/SSE o CAR con dominio de unión de referencia, con células diana OPM2 en una relación E:T de 5:1 en presencia de 0, 111, 333 y 1000 ng/ml de sobrenadante de cultivo de la estirpe celular de mieloma múltiple H929. La concentración de BCMA soluble se cuantificó desde el sobrenadante H929 mediante ELISA. Como se muestra en la **FIG. 10A** la actividad citolítica de las células que expresaban CAR de BCMA-52-LS-O/SSE, CAR de BCMA-55-LS-O/SSE o CAR de Referencia no se bloquearon por la presencia de sobrenadante de H929.

3. BCMA recombinante soluble (rBCMA) y sobrenadante de H929 - Células diana RPMI-8226

En un estudio adicional, se incubaron linfocitos T optimizados, con eliminación de sitios de corte y empalme (O/SSE) que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, con células diana tumorales RPMI-8226 en una relación E:T de 3:1 en presencia de 0, 111, 333 y 1000 ng/ml de BCMA soluble procedente de sobrenadante de cultivo de la estirpe celular de mieloma múltiple H929 (BCMA soluble cuantificado mediante ELISA) o BCMA-Fc. La actividad citolítica de las células que expresaban CAR de BCMA-52-LS-O/SSE, CAR de BCMA-55-LS-O/SSE o CAR de Referencia no se bloqueó por la presencia de sobrenadante de H929.

4. Factor activador de linfocitos B (BAFF)

Se incubaron linfocitos T optimizados y con eliminación de sitios de empalme (O/SSE) que expresaban CAR anti-BCMA, CAR de BCMA-52-LS-O/SSE, CAR de BCMA-55-LS-O/SSE o CAR de referencia, con células diana OPM2 en una relación E:T de 5:1 en presencia de 0, 1, 10, 100 y 1000 ng/ml de factor activador de linfocitos B recombinante (BAFF), un ligando para BCMA. Como se muestra en la **Figura 10B**, la actividad citolítica de los linfocitos T que expresaban CAR de BCMA-52-LS-O/SSE, CAR de BCMA-55-LS-O/SSE o CAR de Referencia no se bloquearon por la presencia de BAFF.

B. Liberación de citocinas

1. BCMA-Fc

Se incubaron linfocitos T que expresaban CAR anti-BCMA, CAR de BCMA-52-LS, CAR de BCMA-55-LS o CAR de Referencia-LS, con células diana OPM2 en una relación E:T de 5:1 en presencia de BCMA soluble-Fc a 0, 111, 333 y 1000 ng/ml También se evaluaron linfocitos T que no expresaban un CAR (simulación). Se evaluó la acumulación de citocinas de IFN-γ, TNF-α y IL-2 en el sobrenadante. Como se muestra en la **FIG. 11A,** la acumulación de citocinas en cultivos que contenían linfocitos T que expresaban el CAR de referencia o el BCMA-52-CAR se redujo sustancialmente en presencia de 111 ng/ml o más de BCMA-Fc, sin embargo, se observó una menor reducción de la acumulación de citocinas en cultivos que contenían linfocitos T que expresaban BCMA-55-CAR en presencia de BCMA soluble-Fc a todas las concentraciones probadas.

2. Sobrenadante de estirpe celular de mieloma múltiple (H929)

Se incubaron linfocitos T que expresaban CAR anti-BCMA, CAR de BCMA-52-LS, CAR de BCMA-55-LS o CAR de Referencia-LS, con células diana OPM2 en una relación E:T de 5:1 en presencia de 0, 111, 333 y 1000 ng/ml de sobrenadante de cultivo de una estirpe celular de mieloma múltiple H929. La acumulación de citocinas en cultivos que contenían linfocitos T que expresaban BCMA-52-CAR, BCMA-55-CAR o CAR de referencia no se bloqueó por la presencia de sobrenadante de H929 **(FIG. 11B)**

Ejemplo 10: Efecto antitumoral de linfocitos T anti-BCMA que expresaban CAR tras transferirlos de forma adoptiva *In Vivo* en un modelo animal

Se evaluaron los efectos antitumorales de linfocitos T humanos primarios que expresan CAR anti-BCMA modificados por ingeniería de ejemplo mediante el control de tumores después de la transferencia adoptiva de células en modelos animales portadores de tumores, incluyendo el modelo en ratón de xenoinjerto de mieloma múltiple humano OPM2 (modelo ortotópico de médula ósea) y el modelo en ratón de xenoinjerto de mieloma múltiple humano RPMI 8226 (modelo de implante subcutáneo).

A. Modelo de OPM2 (Ortotópico/Médula Ósea)

A los ratones NOD.Cg.Prkdc^{scid}IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) se les inyectaron por vía intravenosa (i.v.) 2 × 10^6 células OPM2 (mieloma múltiple) transfectadas con luciferasa de luciérnaga (OPM2-ffluc). El día 14, después del injerto del tumor, los ratones recibieron una única inyección intravenosa (i.v.) de linfocitos T CAR anti-BCMA que expresaban CAR de BCMA-23-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE o CAR de BCMA-55-LS-O/SSE optimizados y con sitios de corte y empalme eliminados (O/SSE). Los linfocitos T que expresaban CAR anti-BCMA se administraron a una dosis de 1 × 10^6 (dosis baja, n=8) o 3 × 10^6 (dosis alta, n=8) linfocitos T que expresaban CAR por ratón, y cada condición se repitió para los linfocitos T que expresaban CAR derivados de dos donantes diferentes. Como control, a los ratones se les administraron células que no expresaban un CAR (simulación, n=8) o no fueron tratadas (n=3). La supervivencia y la carga tumoral se evaluaron durante 90 días.

La actividad antitumoral de las células que expresaban CAR (T-CAR) transferidas adoptivamente se controló mediante imágenes de bioluminiscencia cada 3 a 6 días tras la administración de linfocitos T-CAR durante todo el estudio. Para las imágenes de bioluminiscencia, los ratones recibieron inyecciones intraperitoneales (i.p.) de sustrato de luciferina (CaliperLife Sciences, Hopkinton, MA) resuspendido en PBS (15 µg/g de peso corporal). Los ratones fueron anestesiados y se les tomaron imágenes prácticamente como se describe en el documento WO2015/095895. Se determinó el flujo total (fotón/s) en cada punto temporal. Para los ratones tratados con el control negativo, los animales fueron sacrificados entre 19 y 23 días después de la administración de linfocitos T-CAR, debido a la elevada carga tumoral. En la **FIG. 12A**se muestran resultados representativos de linfocitos T que expresan CAR derivados de un donante.

Como se muestra en la **FIG. 12A,** para todos los ratones tratados, el tumor en los ratones que recibieron linfocitos T procesados de forma simulada o ningun linfocito T siguió creciendo durante el transcurso del estudio. En comparación con los ratones de control, se observó que los ratones que recibieron una transferencia adoptiva de linfocitos T modificados por ingeniería para expresar CAR de BCMA-23-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE o CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, en general, tenían un menor grado de señal de bioluminiscencia, lo que indica una reducción del crecimiento tumoral a lo largo del tiempo y/o un menor grado de crecimiento tumoral en los animales tratados. El efecto sobre el crecimiento tumoral fue mayor con la dosis más alta de células que expresaban CAR anti-BCMA para los CAR anti-BCMA probados a modo de ejemplo.

Se evaluó y comparó la supervivencia de los ratones tratados como se ha descrito anteriormente hasta el día 79 tras la infusión de linfocitos T que expresaban CAR. Se muestran curvas de supervivencia representativas, el método de Kaplan-Meier (GraphPad Prism 7.0, GraphPad Software, La Jolla), de un donante en la **FIG. 12B.** Como se muestra, los linfocitos T-CAR anti-BCMA probados a dosis baja y alta dieron lugar a un mayor porcentaje de supervivencia de los ratones en comparación con los ratones que no recibieron tratamiento o que recibieron linfocitos T procesados de forma simulada. También se evaluó si los ratones presentaban signos clínicos asociados a la carga tumoral, incluyendo parálisis de las extremidades posteriores, pérdida de peso corporal superior al 20 % (>20 %) y enfermedad de injerto contra hospedador (EICH). El número de ratones con estos signos clínicos se redujo en comparación con los ratones que no recibieron tratamiento o que recibieron linfocitos T simulados.

B. Modelo de RPMI-8226 (subcutáneo)

A los ratones NOD.Cg.PrkdcscidIL2rgtm1Wjl/SzJ (NSG) se les inyectaron células RPMI 8226 (plasmocitoma de sangre periférica) por vía subcutánea. El Día 27, los ratones se distribuyeron aleatoriamente en grupos basándose en un volumen tumoral medio mínimo de aproximadamente 130 mm^3. El Día 29, recibieron una única inyección intravenosa (i.v.) de linfocitos T humanos primarios (CD4+ y CD8+) modificados para que expresasen CAR de BCMA-23-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE o CAR de BCMA-55-LS-O/SSE optimizados y con sitios de corte y empalme eliminados (O/SSE) a una dosis de linfocitos T que expresaban CAR de 1 × 10^6 (dosis baja, n=8) o 3 × 10^6 (dosis alta,

n=8). Cada condición se repitió para los linfocitos T que expresaban CAR derivados de dos donantes diferentes. Como controles negativos se usaron ratones a los que se les administraron células que habían sido sometidas a un tratamiento simulado y ratones sin tratar. El volumen tumoral se midió con calibradores dos veces por semana hasta el día 152 después de transferir los linfocitos T CAR y se les practicó la eutanasia cuando estaban moribundos, tenían una pérdida de peso del 20 % o cuando el volumen del tumor superó los 1500 mm^3. Se trazaron curvas de supervivencia hasta el día 108 tras transferir los linfocitos T CAR usando el método de Kaplan-Meier (GraphPad Prism 7.0, GraphPad)

En las figuras **FIG. 13A** y **13B,**se muestran resultados representativos del crecimiento tumoral y la supervivencia de linfocitos T que expresaban CAR derivados de un donante, respectivamente. Como se muestra en la **FIG. 13A**, el tumor siguió creciendo a lo largo del estudio tras transferir células de control negativas o en ratones que no recibieron tratamiento. En comparación con los ratones de control, se observó que los ratones que recibieron una transferencia adoptiva de linfocitos T modificados por ingeniería para expresar CAR de BCMA-23-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE o CAR de BCMA-55-LS-O/SSE mostraron una reducción sustancial del volumen tumoral tras recibir la dosis baja o alta de linfocitos T que expresaban CAR **(FIG. 13A)**. En este modelo, los ratones a los que se les administraron las dos dosis probadas de linfocitos T CAR anti-BCMA presentaron una regresión completa del crecimiento tumoral a los 20 días de haber transferido los linfocitos T CAR, lo que continuó durante toda la duración de la evaluación del estudio que se muestra en la **FIG. 13A.**

El porcentaje de supervivencia de los ratones a los que se administraron linfocitos T que expresaban CAR anti-BCMA también fue sustancialmente mayor que el de los grupos de control (FIG. 13B). A los 108 días después de la infusión de linfocitos T CAR, se habían perdido dos animales tras la eliminación del tumor en el grupo tratado con la dosis alta de linfocitos T que expresaban CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, aunque esto se debió probablemente a los síntomas de la enfermedad de injerto contra hospedador (EICH) en este modelo. Todos los demás ratones tratados con linfocitos T-CAR permanecieron vivos hasta 108 días después de la administración de los linfocitos T CAR.

Se controló la presencia de linfocitos T CAR+ en la sangre para evaluar la farmacocinética de los linfocitos T que expresaban CAR en los ratones desde que fueron tratados. Los 8 ratones de cada grupo de tratamiento se dividieron en 2 grupos de 4 ratones. Se extrajo sangre semanalmente, por hemorragia retro-orbital, alternando entre los 2 grupos de manera que cada ratón fuera desangrado cada dos semanas durante 4 semanas después de la administración de linfocitos T-CAR (es decir, los días 7, 14, 21 y 28 tras la administración de linfocitos T-CAR). Se analizó la sangre recogida para determinar el número de linfocitos T que expresaban CAR, como se determinó usando un anticuerpo contra el marcador indirecto o BCMA soluble-Fc, y linfocitos T no CAR, por µl de sangre mediante citometría de flujo (software FlowJo, Treestar Inc., Ashland, OR).

El número de linfocitos T CD4+ y CD8+ por µl de sangre en los días 7, 14, 21 y 28 se muestra en la **FIG. 14A** y en la **FIG. 14B,** respectivamente, para un donante y en la **FIG. 15A** y la **FIG. 15B,** respectivamente, para el segundo donante. Como se muestra, la expansión de T-CAR se produjo en los grupos de dosis alta y baja en linfocitos T CD4+ y CD8+, con una expansión máxima o pico observada el día 14 tras transferir los linfocitos T CAR en ambos donantes. En todos los momentos evaluados tras transferir linfocitos T-CAR, se observó un mayor número de linfocitos T CD8+ CAR+ en comparación con los linfocitos T CD4+ CAR+ para ambos donantes (compare la **FIG. 14A** y la **FIG. 14B** o la **FIG. 15A** y la **FIG. 15B).** Los linfocitos T modificados por ingeniería para expresar CAR de BCMA-55-LS-O/SSE presentaron una mayor expresión de CAR en comparación con los linfocitos T que expresaban CAR de BCMA-23-LS-O/SSE y CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, que presentaban una expresión comparable entre sí. Estos resultados demuestran que los linfocitos T que expresan CAR de BCMA-55-LS pueden identificarse circulando en la sangre durante el aclaramiento tumoral.

<u>Ejemplo 11: Evaluación de las señales a través del receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-BCMA en una estirpe celular indicadora Nur77-tdTomato</u>

Se generó una estirpe celular indicadora de linfocitos T Jurkat estable de ejemplo que contenía un indicador Nur77 con activación génica (knock-in, en inglés), en el que las secuencias de ácido nucleico que codificaban la molécula indicadora se eliminaron en el locus endógeno de Nur77 mediante reparación dependiente de homología (HDR). El receptor huérfano de hormonas nucleares Nur77 (también llamado Nr4a1) es un gen de respuesta inmediata temprana inducido por la activación de la señal del receptor de linfocitos T y/o a través de moléculas que contienen el motivo de activación inmunorreceptor a base de tirosina (ITAM). La estirpe celular Nur77-indicadora se usó para evaluar la activación de linfocitos T en células modificadas con CAR, ya que Nur77 es un producto génico temprano inmediato en linfocitos T; la transcripción se inicia específicamente después de la señalización de CD3 zeta y no se ve influida por señales mediadas por citocinas o TLR. En un clon de linfocitos T Jurkat E6-1 (ATCC® TIB-152™), la secuencia de ácido nucleico que codificaba una proteína roja fluorescente (RFP; tal como la proteína fluorescente tdTomato) se usó como diana para su integración en el último exón del gen endógeno *Nr4a1* (Nur77), antes del codón de parada, y después de un elemento T2A "autoescindible" (secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 686 o 687, secuencia polipeptídica codificante expuesta en la SEQ ID NO: 631, 653 o 654), para permitir la coexpresión de RFP como indicador de la expresión de Nur77, introduciendo una alteración genética mediante edición génica y dirigiendo un transgén para su integración en un lugar cercano a la alteración genética mediante reparación dependiente de homología (HDR). Se modificó la estirpe celular indicadora Nur77-tdTomato para que expresara varios receptores de

antígenos quiméricos anti-BCMA y se evaluó la expresión del indicador.

Se introdujeron vectores víricos que contenían polinucleótidos que codificaban los siguientes receptores de antígenos quiméricos (CAR) anti-BCMA, descritos en el Ejemplo 3, en la estirpe de linfocitos T Jurkat indicadora Nur77-tdTomato: CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, CAR de BCMA-23-LS-O/SSE y CAR de BCMA-25-LS-O/SSE. Se evaluó la actividad de señalización de Nur77 en células indicadoras que expresaban CAR anti-BCMA en respuesta a cantidades crecientes de BCMA recombinante unido a placas o en respuesta a estirpes celulares de mieloma múltiple de ejemplo tras 20 horas de cocultivo.

A. Señalización de Nur77 en respuesta a BCMA recombinante unido a placa

Las células indicadoras transducidas con un vector vírico que codificaba CAR de BCMA-55-LS-O/SSE se incubaron durante 6 horas en placas de cultivo celular de 96 pocillos que habían sido recubiertas durante la noche con concentraciones variables (0,008 µg/ml, 0,04 µg/ml, 0,2 µg/ml, 1 µg/ml y 5 µg/ml) del polipéptido de fusión BCMA-Fc (BCMA humana soluble fusionado en su extremo C a una región Fc de IgG). Se usó un polipéptido Fc recombinante como control (Control de Fc). Como se muestra en la **FIG. 16A**, se observó un aumento dependiente de la dosis en la expresión de tdTomato tras la estimulación de células indicadoras que expresaban CAR anti-BCMA con antígeno recombinante.

En otro estudio, se incubaron células indicadoras modificadas por ingeniería para expresar CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, CAR de BCMA-23-LS-O/SSE y CAR de BCMA-25-LS-O/SSE con diez (10) diluciones en serie dobles de BCMA-Fc. Se usaron células indicadoras que expresaban un CAR anti-CD19 como control no diana. Se determinó el porcentaje de células que expresaban tdTomato dentro de la población de células que expresaban el CAR (como se determinó basándose en la expresión del marcador indirecto). Como se muestra en la **FIG. 16B**, se observó un aumento dependiente de la dosis en la expresión de tdTomato tras la estimulación con antígeno recombinante. No se observó ninguna respuesta a la estimulación con BCMA-Fc por parte de las células indicadoras de control que expresaban un CAR contra un antígeno no diana.

B. Señalización de Nur77 en respuesta a estirpes celulares de mieloma múltiple

Las células indicadoras transducidas con un vector vírico que codificaba CAR de BCMA-55-LS-O/SSE se incubaron durante 20 horas con NALM6, Daudi, RPMI-8226, MM1S, OPM2 y H929. Se observaron diferentes niveles de expresión de RFP en función de la estirpe celular que confería estimulación a las células indicadoras que expresaban CAR anti-BCMA.

Para evaluar las cantidades de expresión de BCMA en la superficie de las estirpes celulares de mieloma múltiple utilizadas para estimular las células indicadoras que expresan CAR anti-BCMA, las células se tiñeron con anticuerpo anti-BCMA humano (BioLegend, San Diego, CA), los eventos de citometría de flujo se recogieron en un citómetro de flujo LSRFortessa™ (BD Biosciences, San Jose, CA) y los datos se analizaron con el software FlowJo (Treestar Inc., Ashland, OR). La densidad del antígeno BCMA (AD) se determinó usando microesferas Quantum™ Simply Cellular® anti-IgG de ratón recubiertas con el mismo anticuerpo anti-BCMA humano. Se marcaron las microesferas y se calculó la capacidad de unión del anticuerpo contra BCMA. Los resultados confirmaron la detección de un parámetro (niveles detectables del indicador) indicativo de actividad de CAR específica en células indicadoras que expresaban CAR, cuando se incubaron con cada una de las diferentes células que expresaban BCMA, presentando un intervalo de diferentes densidades de antígeno, y no cuando se incubaron con células diana negativas. En general, el grado de señal del indicador RFP se correlacionó con los niveles de expresión en superficie de BCMA. Cuando se incubaron con células en las que se observaron niveles más bajos de expresión en superficie de BCMA, las células indicadoras que expresaban CAR presentaron niveles más bajos del indicador indicativo de actividad. Análogamente, las células indicadoras que expresaban CAR incubadas con estirpes celulares en las que se observaron niveles más altos de expresión de BCMA en superficie presentaron niveles más altos del indicador indicativos de actividad. Por lo tanto, se observó que la densidad de expresión de BCMA en la superficie de las diversas estirpes celulares de mieloma múltiple se correlacionaba con el nivel de un parámetro indicativo de la actividad específica de antígeno de las células indicadoras que expresaban el CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, lo que indica que las células que expresan el CAR pueden presentar actividad en un intervalo de densidades de antígeno y, en algunos aspectos, pueden presentar mayor actividad con mayores niveles de antígeno.

Ejemplo 12: Evaluación de la señal indicadora Nur77-tdTomato en estirpes celulares indicadoras que expresaban receptores de antígenos quiméricos (CAR) anti-BCMA que contenían espaciadores de diferente longitud

La expresión del indicador en células modificadas por ingeniería para expresar CAR anti-BCMA que contenían el mismo dominio de unión a antígeno pero espaciadores de diferente longitud se determinó después del cocultivo con células diana. Las células Jurkat Nur77-tdTomato, generadas como se describe en el Ejemplo 11, se modificaron para expresar CAR de BCMA-55-LS-O/SSE (que contenía un espaciador más largo derivado de la bisagra C_H2-C_H3 de IgG modificada), expuesto en la SEQ ID NO: 649) o CAR de BCMA-55-SS (que contiene un espaciador más corto derivado de la bisagra de IgG4, expuesto en la SEQ ID NO: 363). Las células se cocultivaron con células diana K562 humanas

que expresaban BCMA (BCMA-K562) en varias relaciones E:T. Como control se usaron células indicadoras que expresaban un CAR dirigido a un antígeno diferente (CAR anti-CD19). Como se muestra en la **FIG. 17,** se observó que el nivel de expresión de Nur77-tdTomato era diferente en los CAR anti-BCMA que contenían diferentes longitudes de espaciador, y se observó una respuesta dependiente de la dosis a la estimulación con células diana que expresaban BCMA.

Ejemplo 13: Evaluación de la señalización independiente de antígeno (tónica) a partir de diferentes receptores de antígenos quiméricos (CAR) anti-BCMA

Las células indicadoras Nur77-tdTomato se transdujeron con un vector vírico que codificaba CAR anti-CD19 (control), CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, CAR de BCMA-23-LS-O/SSE o CAR de BCMA-25-LS-O/SSE como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 11, con la excepción de que el marcador indirecto para la transducción fue la proteína verde fluorescente superfold, sfGFP. En este modelo, la señalización tónica se indicó mediante la expresión de tdTomato en ausencia de estimulación del antígeno BCMA.

También se generó y se transdujo en la célula indicadora un vector vírico que codificaba un CAR anti-BCMA que contenía un scFv anti-BCMA diferente, designado como CAR de BCMA-52-LS-O/SSE. Las distintas células que expresaban CAR se incubaron sin estimulación antigénica para evaluar el grado de señalización independiente de antígeno (tónica) durante 3 días y se evaluó para determinar la expresión de tdTomato mediante citometría de flujo.

Como se muestra en la **FIG. 18,** varias estirpes celulares que expresaban CAR presentaron un grado variable de expresión de tdTomato en ausencia de estimulación antigénica. El porcentaje de células tdTomato+ (indicativas de la activación tónica del indicador) entre las células que expresaban CAR (indicadas por las células GFP+) varió del 0,23 % al 19,3 %, en células que expresan diferentes CAR.

Ejemplo 14: Evaluación de la señalización independiente de antígeno (tónica) de los receptores de antígenos quiméricos (CAR) anti-BCMA que contenían diferentes dominios intracelulares

Se evaluó la señalización independiente de antígeno (tónica) en células indicadoras que expresaban varios CAR que contenían diferentes regiones de señalización intracelular. Las células indicadoras Nur77-tdTomato se transdujeron con un vector vírico que codificaba CAR anti-CD19, CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, CAR de BCMA-26-LS-O/SSE, CAR de BCMA-23-LS-O/SSE o CAR de BCMA-52-LS-O/SSE, generadas en general como se describe en los Ejemplos 11 y 13, con la excepción de que los CAR contenían dominios intracelulares derivados de 4-1BB o CD28, y el marcador indirecto de transducción era un receptor truncado. Las distintas células que expresaban CAR se incubaron sin estimulación antigénica para evaluar el grado de señalización independiente de antígeno (tónica) y se evaluó para determinar la expresión de tdTomato mediante citometría de flujo.

Como se muestra en la **FIG. 19A** y la **FIG. 19B**, los dominios intracelulares derivados de 4-1BB y CD28 en varios CAR dieron lugar a diferentes niveles de señalización tónica, como indica el porcentaje de células tdTomato+ entre las células CAR+ (determinado a partir de la expresión del marcador indirecto).

Ejemplo 15: Evaluación de la reactividad cruzada a antígenos de receptores de antígenos quiméricos (CAR) anti-BCMA usando una estirpe celular indicadora

La estirpe celular Nur77-tdTomato modificada por ingeniería para expresar CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, específica para BCMA humano y generada como se describe en general en el Ejemplo 11, se empleó para evaluar la reactividad cruzada entre especies de los dominios de unión a antígeno de los CAR. La estirpe celular indicadora que expresaba CAR de BCMA-55-LS-O/SSE se cocultivó con células de leucemia mielógena humana K562 que expresaban BCMA humano (huBCMA), BCMA murino (muBCMA) o BCMA de macaco cangrejero (cynoBCMA), en una relación E:T de 2:1 o 5:1. El porcentaje de células tdTomato+ se determinó mediante citometría de flujo.

Como se muestra en la **FIG. 20A**, se observó que más del 90 % de las células que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE eran tdTomato+ cuando se cultivaron con células diana que expresaban huBCMA, en las dos relaciones E:T probadas. En comparación, cuando se cultivaron con células diana que expresaban muBCMA, muy pocas células eran tdTomato+, lo que indica una reactividad cruzada muy baja. Cuando se cultivaron con células diana que expresaban cynoBCMA, aproximadamente del 10 al 20 % de las células eran tdTomato+, lo que indica cierta reactividad cruzada con cynoBCMA.

La estirpe celular indicadora que expresaba CAR de BCMA-55-LS-O/SSE se incubó con concentraciones crecientes (0, 0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 y 100 µg/ml) de huBCMA y cynoBCMA aplicadas como recubrimiento en placas de fondo plano de 96 pocillos. Se determinó el porcentaje de células tdTomato+ y la intensidad de fluorescencia media (IFM) de la señal tdTomato en las células CAR+.

Como se muestra en las FIG. 20B y 20C, cynoBCMA no presentó reacción cruzada con CAR de BCMA-55-LS-O/SSE a bajas concentraciones, pero sí a altas concentraciones.

Ejemplo 16: Evaluación de la especificidad antigénica de los receptores de antígenos quiméricos (CAR) anti-BCMA usando una estirpe celular indicadora

La especificidad antigénica para la activación de las células que expresan CAR de BCMA-55-LS-O/SSE se comprobó comparando la activación de las células indicadoras Jurkat Nur77 en respuesta a las células diana MM1S que expresaban BCMA, con células diana K562 modificadas para expresar una proteína no BCMA que se ha demostrado que es reconocida a bajos niveles por BCMA-55-scFv Fc en el Ejemplo 5C, Catepsina G (CTSG). Como control negativo, también se evaluaron las células K542 progenitoras. Brevemente, se incubaron células indicadoras Nur77, transducidas con un vector vírico que codificaba CAR de BCMA-55-LS-O/SSE, 24 horas con las células diana indicadas anteriormente, en relaciones 5:1, 1:1 y 1:5 de células efectoras:diana, y la activación se determinó midiendo el porcentaje de células que expresaban RFP (RFP+) mediante citometría de flujo. Los resultados demostraron que las células que expresaban CAR de BCMA-55-LS-O/SSE eran activadas por células MM1S que expresaban BCMA, pero no las células diana negativas para BCMA (progenitoras o células que expresan el antígeno no BCMA, CTSG).

Ejemplo 17: Determinación del epítopo de unión de los scFv BCMA-52 y BCMA-55

Se evaluaron los epítopos reconocidos, por ejemplo, unidos específicamente a, por clones de scFv anti-BCMA de ejemplo (scFv anti-BCMA BCMA-1, BCMA-5, BCMA-9, BCMA-23, BCMA-25, BCMA-26, BCMA-52 y BCMA-55), usando el mapeo completo discontinuo de epítopos de Chemical Linkage of Peptides onto Scaffolds (CLIPS; Pepscan Presto BV, Lelystad, Países Bajos; véase, por ejemplo, Timmerman *et al.*, (2007) J. Mol. Recognit. 20: 283-329). El mapeo se llevó a cabo usando clones de scFv anti-BCMA, tales como los fusionados con Fc de ratón (scFv-mFc).

Se generaron bibliotecas de péptidos lineales y conformacionales de los restos de aminoácidos 1-54 de BCMA humano (expuestos como restos de aminoácidos 1-54 de la SEQ ID NO: 367) basándose en un diseño de matriz combinatoria. Se usaron péptidos lineales y miméticos estructurales, incluyendo el bucle único, α-hélice, giro β, miméticos combinatorios y lineales de puentes disulfuro, así como miméticos discontinuos de epítopos, junto con péptidos de control positivo y negativo, sobre un soporte sólido aminofuncionalizado.

Las afinidades de unión a los péptidos de la biblioteca de epítopos se determinaron usando ELISA. Los conjuntos de péptidos se incubaron con una solución que contenía el scFv durante toda la noche a 4 °C. La información sobre la afinidad se usó en cribados iterativos para definir la secuencia y la conformación de los epítopos. Se generaron mapas de calor de la información de afinidad de dos o más bucles.

Se observó que los scFv evaluados reconocían epítopos conformacionales que incluían varios tramos peptídicos discontinuos de la secuencia peptídica de BCMA. Se observó que los scFv de BCMA-1, BCMA-5, BCMA-23 y BCMA-25 se unían a un péptido de $_{30}$SNTPPLTCQR$_{39}$ (expuesto en la SEQ ID NO: 379), que podía reconocerse en forma lineal. En algunos aspectos, dichos anticuerpos reconocen un epítopo no lineal o lineal que incluye restos de dicho péptido de SEQ ID NO: 379, y en algunos aspectos reconocen un epítopo no lineal que incluye además restos de $_{21}$CIPCQLR$_{27}$ (expuestos en la SEQ ID NO: 375), $_{30}$SNTPPLTCQR$_{39}$ y/o $_{44}$SVTNSVK$_{50}$ (expuestos en la SEQ ID NO: 393). Se observó que el scFv de BCMA-26 reconocía un epítopo que comprendía restos presentes en $_{8}$CSQNEYF$_{14}$ (expuestos en la SEQ ID NO: 410) y $_{17}$LLHACIPCQLR$_{27}$ (expuestos en la SEQ ID NO: 428). Se observó que BCMA-52-scFv-mFc se unía a un epítopo que contenía restos de los siguientes péptidos discontinuos: $_{10}$QNEYF$_{14}$ (SEQ ID NO: 637), $_{21}$CIPCQL$_{26}$ (SEQ ID NO: 638) y $_{7}$CQRYC$_{41}$ (SEQ ID NO: 639). Se observó que BCMA-55-scFv-mFc se unía específicamente a un epítopo que contenía restos presentes en péptidos que comprendían porciones discontinuas de la secuencia polipeptídica de BCMA, comprendiendo individualmente las secuencias siguientes: $_{1}$MLMAG$_{6}$ (SEQ ID NO: 640), $_{13}$YFDSL$_{17}$ (SEQ ID NO: 779), y $_{25}$QLRCSSNTPPL$_{35}$ (SEQ ID NO: 642). En algunas realizaciones, el anticuerpo o receptor proporcionado se une específicamente a un epítopo que comprende restos presentes dentro de uno o más de, por ejemplo, cada uno de los péptidos discontinuos que tiene las secuencias de: MLMAG (SEQ ID NO: 640), YFDSL (SEQ ID NO: 779) y QLRCSSNTPPL (SEQ ID NO: 642). En algunos aspectos, el anticuerpo o receptor proporcionado se une específicamente a un epítopo que comprende restos presentes dentro de uno o más de, por ejemplo, cada uno de, los siguientes péptidos discontinuos que tienen las secuencias de: MLMAG (SEQ ID NO: 640), YFDSLL (SEQ ID NO: 641) y QLRCSSNTPPL (SEQ ID NO: 642); en algunos aspectos, el anticuerpo o receptor proporcionado se une específicamente a un epítopo que comprende restos presentes dentro de uno o más de, por ejemplo, cada uno de, los siguientes péptidos discontinuos que tienen las secuencias de: MLMAG (SEQ ID NO: 640), QNEYFDSLL (SEQ ID NO: 780) y QLRCSSNTPPL (SEQ ID NO: 642).

Ejemplo 18: Administración de células con expresión de CAR anti-BCMA a sujetos con mieloma múltiple (MM) en recaída o refractario

Se administraron composiciones de linfocitos T que expresaban receptores de antígenos quiméricos (CAR) con linfocitos T autólogos que expresaban un CAR específico para el antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA) a sujetos humanos con mieloma múltiple (MM) en recaída y/o refractario.

A. Sujetos y tratamiento

Se administraron composiciones que contenían linfocitos T autólogos modificados por ingeniería para expresar un

CAR de ejemplo específico para BCMA a sujetos humanos adultos con mieloma múltiple (MM) en recaída o refractario (R/R), que hayan recibido 3 o más tratamientos previos (incluyendo los 3 o más tratamientos previos al menos un inhibidor del proteasoma, un agente inmunomodulador y un anticuerpo monoclonal anti-CD38, en cada caso, a menos que el sujeto no fuera candidato a recibir dicho tratamiento por estar contraindicado).

Las composiciones de linfocitos T administradas se habían generado mediante un proceso que incluía el enriquecimiento basado en inmunoafinidad de poblaciones de células CD4+ y CD8+ a partir de muestras de leucocitaféresis de sujetos individuales con MM, combinando células de dichas poblaciones, tal como en o aproximadamente en una relación de 1:1, y sometiendo las células a etapas de procesamiento que incluían transducción y expansión celular, y crioconservación, y generación de células con un intervalo de relaciones de linfocitos T CAR CD4+ a CD8+. El CAR contenía un dominio de unión scFv derivado de BCMA-55, un espaciador de bisagra C_H2-C_H3 modificado derivado de IgG, un dominio transmembrana de CD28 y una región de señalización intracelular que incluía, en serie, un endodominio de 4-1BB y un endodominio de CD3zeta. La secuencia polinucleotídica que codificaba el CAR anti-BCMA no incluía posibles sitios identificados de donantes y aceptores de corte y empalme críptico.

De dos a siete días antes de la infusión de linfocitos T CAR+ (y completada al menos 48 horas antes de la infusión de T-CAR) los sujetos recibieron una quimioterapia de linfoagotamiento (QLA) con flurdarabina (flu, 30 mg/m^2/día) y ciclofosfamida (Cy, 300mg/m^2/día) durante 3 días, la QLA completada al menos 48 horas antes de la infusión de T-CAR. Las composiciones celulares crioconservadas se descongelaron a pie de cama antes de la administración intravenosa, designándose el día de la infusión como día 1. El día 1, a los sujetos se les administró una dosis de linfocitos T que expresaban CAR de la siguiente manera: una dosis única de nivel de dosis 1 (ND1) que contenía 5×10^7 linfocitos T totales que expresaban CAR, o una dosis única de nivel de dosis 2 (ND2) que contenía $1,5 \times 10^8$ linfocitos T totales que expresaban CAR.

En un punto temporal determinado del análisis, 19 sujetos adultos se habían inscrito en un estudio clínico en curso que implicada dicha terapia. De estos 19 sujetos en este punto temporal particular, a 13 sujetos se les habían administrado las células CAR+ anti-BCMA, cada una a ND1 o ND2. De estos 13 sujetos, en este punto temporal particular del estudio en curso, 8 sujetos fueron evaluables para atributos indicativos de seguridad (evaluabilidad basada en un seguimiento ≥ 1 mes) (n = 5 ND1; n = 3 ND2). Un sujeto no había podido recibir linfocitos T CAR+, debido a septicemia después de la QLA, que condujo a la muerte antes de la administración de linfocitos T CAR+. Tres sujetos (todos ND1) fueron evaluables en este punto temporal para la respuesta confirmada (evaluabilidad basada en ≥ 2 meses de seguimiento) según los criterios de respuesta uniformes del Grupo Internacional de Trabajo sobre Mieloma (IMWG) (Kumar *et al.* (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346).

Para estos 8 sujetos evaluados en este punto temporal, la mediana de seguimiento fue de 5 semanas (intervalo de 4 a 13 semanas). La mediana de edad fue de 53 años (intervalo 36 - 66) con una mediana de tiempo desde el diagnóstico de 4 años (intervalo 2 - 12). Los sujetos habían recibido una mediana de 10 pautas previas (intervalo de 4 a 15) para el MM. De los 8 sujetos, 4 (50 %) habían sido refractarios (sin respuesta o progresión dentro de los 60 días siguientes a la última terapia) al bortezomib, carfilzomib, lenalidomida, pomalidomida y un anticuerpo monoclonal anti-CD38. Siete de los 8 sujetos (88 %) habían tenido un trasplante autólogo de células madre previo y 4 de 8 (50 %) tenían citogenética de alto riesgo del IMWG.

En el momento de la evaluación en el punto temporal del estudio en curso, no se habían observado TLD en los sujetos evaluados que recibían ND1 o ND2. Se había observado síndrome de liberación de citocinas (SLC), todos de grado 1 o 2, en 6 de los 8 (75 %) sujetos en el punto temporal. La mediana de aparición del SLC en el punto temporal entre los 8 sujetos fue de 9 días (intervalo de 4 - 10) con una mediana de duración de 4,5 días (intervalo de 2-19 días). Ninguno de los sujetos con SLC de grado 2 en el punto temporal había requerido soporte vasopresor y sólo 1 sujeto había recibido tocilizumab. Ninguno de los sujetos había presentado SLC de grado 3 o superior. Tres de 8 (38 %) sujetos habían experimentado eventos adversos (EA) neurológicos. Dos de los ocho sujetos en el punto temporal habían presentado eventos de grado 1, y 1 había presentado un evento de grado 3 (letargia), que se había resuelto a las 24 horas después de recibir esteroides. Los EA neurológicos aparecieron a los 9, 11 y 12 días, con una duración de 2, 3 y 1 días, respectivamente, para los 3 sujetos que experimentaron EA neurológicos. El sujeto que había experimentado neurotoxicidad (NT) de grado 3 en el momento del análisis en este punto temporal había desarrollado leucemia de células plasmáticas (LCP) secundaria justo antes de recibir la QLA.

Se observó que los 8 sujetos en el punto temporal tenían evidencia de respuesta objetiva, incluyendo el sujeto con LCP secundaria. Se observó que tres sujetos, que recibieron todos ND1, habían recibido respuestas confirmadas (1 respuesta parcial, RP; 2 respuesta completa estricta, RCe), mientras que el resto de sujetos permanecieron sin confirmar (1 respuesta completa, RC; 2 respuesta parcial muy buena, RPMB; 1 RP, 1 RM). En el punto temporal de la evaluación, no se había observado que ningún sujeto hubiera progresado.

Los resultados mostraron que a los niveles de dosis evaluados, la administración de la terapia con linfocitos CAR anti-BCMA presentó perfiles de seguridad favorables, sin TLD notificadas en este punto temporal en un estudio clínico en curso. Los resultados fueron coherentes con la conclusión de que en este punto temporal la incidencia de NT de grado 3 o superior era baja, y no se había observado ninguna SLC de grado 3 o superior con respuesta clínica.

SECUENCIAS

EN PÁGINA SIGUIENTE

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
1	DYAMS	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H1 (aa) Numeración de Kabat
2	DYYMS	BCMA-2, -9, -10, -12, -17, -21, -22, -23, -24, -26, -32, -33, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -47, -48, -49 CDR-H1 (aa) Numeración de Kabat
3	DYAMH	BCMA-11, -20, -27, -28, -29, -30, -34, -39 CDR-H1 (aa) Numeración de Kabat
4	FIRSKAYGGTTEYAASVKG	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H2 (aa) Numeración de Kabat
5	YISSSGSTIYYADSVKG	BCMA-2, -9, -10, -12, -17, -21, -22, -23, -26, -32, -35, -36, -37, -38, -40, -47, -48, -49 CDR-H2 (aa) Numeración de Kabat
6	GISWNSGSIGYADSVKG	BCMA-11, -20, -24, -27, -29, -30, -34, -39 CDR-H2 (aa) Numeración de Kabat
7	WSAPTDY	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 y CDR-H3 de VH-2 (aa)
8	VDGPPSSDI	CDR-H3 de BCMA-2 (aa)
9	VDGDYVDDY	BCMA-9, -36, -37, -38, -41 y CDR-H3 de VH-8 (aa)
10	VDGPPSFDI	BCMA-10, -12, -26, -32, -47, -48, -49 y CDR-H3 de VH-1 (aa)
11	DLGPDYDPDAFDI	BCMA-11, -34 CDR-H3 (aa)
12	GFTFGDY	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -30, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H1 (aa) Numeración de Chothia
13	GFTFSDY	BCMA-2, -9, -12, -17, -21, -22, -23, -24, -26, -32, -33, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -47, -48, -49 CDR-H1 (aa) Numeración de Chothia
14	GFPFSDY	CDR-H1 de BCMA-10 (aa) Numeración de Chothia
15	GFTFDDY	BCMA-11, -20, -27, -28, -29, -34, -39 CDR-H1 (aa) Numeración de Chothia
16	RSKAYGGT	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H2 (aa) Numeración de Chothia

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
17	SSSGST	BCMA-2, -9, -10, -12, -17, -21, -22, -23, -26, -32, -35, -36, -37, -38, -40, -47, -48 CDR-H2 (aa) Numeración de Chothia
18	SWNSGS	BCMA-11, -20, -24, -27, -29, -30, -34, -39 CDR-H2 (aa) Numeración de Chothia
19	GFTFGDYAMS	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H1 (aa) Numeración AbM
20	GFTFSDYYMS	BCMA-2, -9, -12, -17, -21, -22, -23, -24, -26, -32, -33, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -47, -48, -49 CDR-H1 (aa) Numeración AbM
21	GFPFSDYYMS	CDR-H1 de BCMA-10 (aa) Numeración AbM
22	GFTFDDYAMH	BCMA-11, -20, -27, -28, -29, -34, -39 CDR-H1 (aa) Numeración AbM
23	FIRSKAYGGTTE	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H2 (aa) Numeración AbM
24	YISSSGSTIY	BCMA-2, -9, -10, -12, -17, -21, -22, -23, -26, -32, -35, -36, -37, -38, -40, -47, -48, -49 CDR-H2 (aa) Numeración AbM
25	GISWNSGSIG	BCMA-11, -20, -24, -27, -29, -30, -34, -39 CDR-H2 (aa) Numeración AbM
26	KSSQSVLSTSNNKNYLA	CDR-L1 de BCMA-1 (aa)
27	RASQSIKTNLA	CDR-L1 de BCMA-2 (aa)
28	KSSQSVLHSSNNKNYLA	BCMA-3, -46 CDR-L1 (aa)
29	RASQDIRNSLA	CDR-L1 de BCMA-4 (aa)
30	KSSQSVLYSSNNKNYLA	BCMA-5, -8, -24 CDR-L1 (aa)
31	RASQSISNSLA	CDR-L1 de BCMA-6 (aa)
32	RASQDIGDYLA	CDR-L1 de BCMA-7 (aa)
33	GANNIGSKSVH	BCMA-9, -26, -35 CDR-L1 (aa)
34	GGNNIERKNVH	CDR-L1 de BCMA-10 (aa)
35	SGSSSNIGSNAVN	CDR-L1 de BCMA-11 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
36	SGSRSNIGNNYVS	CDR-L1 de BCMA-12 (aa)
37	WASTREA	CDR-L2 de BCMA-1 (aa)
38	AASTRAT	CDR-L2 de BCMA-2 (aa)
39	WASTRES	BCMA-3, -5, -8, -31, -44, -46 CDR-L2 (aa)
40	AASRLES	BCMA-4, -42 CDR-L2 (aa)
41	AASNVED	CDR-L2 de BCMA-6 (aa)
42	VASTLQS	CDR-L2 de BCMA-7 (aa)
43	DDDDRPS	BCMA-9, -26, -35 CDR-L2 (aa)
44	DDSDRAS	CDR-L2 de BCMA-10 (aa)
45	NSHQRPS	CDR-L2 de BCMA-11 (aa)
46	DNAKRPS	CDR-L2 de BCMA-12 (aa)
47	QQYFSSPYT	CDR-L3 de BCMA-1 (aa)
48	QQYGSSPT	CDR-L3 de BCMA-2 (aa)
49	QQYYTTPLT	BCMA-3, -46 CDR-L3 (aa)
50	QQYYSLPLS	CDR-L3 de BCMA-4 (aa)
51	QQYYSTPWT	CDR-L3 de BCMA-5 (aa)
52	QQSHMYPPT	CDR-L3 de BCMA-6 (aa)
53	QQYHSHPWT	CDR-L3 de BCMA-7 (aa)
54	QQYYSTPYT	BCMA-8, -31 CDR-L3 (aa)
55	HVWDRSRDHYV	CDR-L3 de BCMA-9 (aa)
56	QAWDSSSTLYV	CDR-L3 de BCMA-10 (aa)
57	AAWDDSLRGYV	CDR-L3 de BCMA-11 (aa)
58	QVWDSSSDHWV	BCMA-12, -32, -48 CDR-L3 (aa)
59	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFG	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -45, -46 FR1 de VH (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
60	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-2, -12, -22, -23, -26, -40, -48 FR1 de VH (aa)
61	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-9, -24, -35, -37 FR1 de VH (aa)
62	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFS	FR1 de VH de BCMA-10 (aa)
63	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD	BCMA-11, -28, -29, -39 FR1 de VH (aa)
64	WFRQAPGKGLEWVG	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 FR2 de VH (aa)
65	WIRQAPGKGLEWVS	BCMA-2, -9, -10, -12, -21, -22, -23, -24, -26, -32, -33, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -47, -48, -49 FR2 de VH (aa)
66	WVRRAPGKGLEWVS	FR2 de VH de BCMA-11 (aa)
67	RFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAA	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 FR3 de VH (aa)
68	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	BCMA-2, -10, -12, -21, -22, -23, -26, -32, -40, -41, -48, -49 FR3 de VH (aa)
69	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	BCMA-9, -11, -17, -24, -28, -29, -30, -33, -34, -35, -36, -38, -39 FR3 de VH (aa)
70	WGQGTLVTVSS	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -15, -16, -18, -20, -21, -22, -23, -25, -27, -31, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -42, -44, -45, -46, -51 FR4 de VH (aa)
71	WGQGTMVTVSS	BCMA-2, -10, -11, -12, -24, -26, -29, -30, -32, -34, -39, -48, -49, -50 FR4 de VH (aa)
72	DIVMTQSPDSLSVSPGERATISC	FR1 de VL de BCMA-1 (aa)
73	EIVMTQSPATLSVSPGETATLSC	FR1 de VL de BCMA-2 (aa)
74	DIVMTQSPDSLWSLGERATINC	BCMA-3, -46 FR1 de VL (aa)
75	AIRMTQSPSSLSASLGDRVTITC	FR1 de VL de BCMA-4 (aa)
76	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	BCMA-5, -8, -24 FR1 de VL (aa)
77	DIVMTQSPSSLSVSVGERVTITC	FR1 de VL de BCMA-6 (aa)
78	VIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC	FR1 de VL de BCMA-7 (aa)
79	SYELTQPPSVSVAPGQTARVTC	FR1 de VL de BCMA-9 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
80	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITC	BCMA-10, -26 FR1 de VL (aa)
81	QLVLTQPPSASGTPGQRVTISC	FR1 de VL de BCMA-11 (aa)
82	QSALTQPPSVSAAPGQKVTISC	FR1 de VL de BCMA-12 (aa)
83	WYQQKPGQPPRLLLY	FR2 de VL de BCMA-1 (aa)
84	WYQQKPGQAPRLLIY	BCMA-2, -34 FR2 de VL (aa)
85	WYQQKPGQPPKLLIY	BCMA-3, -5, -8, -24, -44, -46 FR2 de VL (aa)
86	WYQQRPGKAPKLLLS	FR2 de VL de BCMA-4 (aa)
87	WYKQRPGEAPKLLIH	FR2 de VL de BCMA-6 (aa)
88	WFQQRPGKAPKSLIY	FR2 de VL de BCMA-7 (aa)
89	WYQQKPGQAPMLWY	BCMA-9, -26, -35 FR2 de VL (aa)
90	WYQQKPGQAPVPWY	FR2 de VL de BCMA-10 (aa)
91	WYQQLPGTAPEVLIY	FR2 de VL de BCMA-11 (aa)
92	WYQQLPGTAPKLLIY	FR2 de VL de BCMA-12 (aa)
93	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC	BCMA-1, -3, -5, -8, -31, -44, -46 FR3 de VL (aa)
94	GIPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYC	FR3 de VL de BCMA-2 (aa)
95	GVPSRFSGTTSGAEYALSISSLQPEDVASYFC	FR3 de VL de BCMA-4 (aa)
96	GVPSRFSGRGSGTVFTLAISNVQPEDFATYYC	FR3 de VL de BCMA-6 (aa)
97	GVPSRFSGSGSGTHFTLTINSLQPEDFATYYC	FR3 de VL de BCMA-7 (aa)
98	GIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFC	BCMA-9, -26, -35 FR3 de VL (aa)
99	GIPERFSASNSGNTATLTISGAQATDEAEYYC	FR3 de VL de BCMA-10 (aa)
100	GVPDRFSGSKSGTSASLAINGLQSEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-11 (aa)
101	GIPDRFSGSKSGTSATLDIAGLQTGDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-12 (aa)
102	FGHGTKLEIK	FR4 de VL de BCMA-1 (aa)
103	FGRGTKLEIK	BCMA-2, -39 FR4 de VL (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
104	FGGGTKVEIK	BCMA-3, -4, -6, -30, -46 FR4 de VL (aa)
105	FGQGTKVDIK	BCMA-5, -45 FR4 de VL (aa)
106	FGPGTKVDIK	FR4 de VL de BCMA-7 (aa)
107	FGQGTKLEIK	BCMA-8, -44 FR4 de VL (aa)
108	FGTGTKLTVL	BCMA-9, -10, -11, -26, -40, -47 FR4 de VL (aa)
109	FGGGTKLTVL	BCMA-12, -14, -15, -16, -17, -18, -32, -33, -36, -37, -38, -41, -48, -49, -50 FR4 de VL (aa)
110	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFSDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAFTDYWGQGTLVTVSS	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -45, -46 Cadena VH (aa)
111	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPFSSDIWGQGTMVTVSS	Cadena de V_H de BCMA-2 (aa)
112	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYVTDYWGQGTLVTVSS	Cadena de V_H de BCMA-9 (aa)
113	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGPFSFDIWGQGTMVTVSS	Cadena de V_H de BCMA-10 (aa)
114	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRPAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPYYDFDAFDIWGQGTMV TVSS	Cadena de V_H de BCMA-11 (aa)
115	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGPFSFDIWGQGTMVTVSS	BCMA-12, -26, -48 Cadena de V_H (aa)
116	DIVMTQSPDSLSVSPGERATISCKSSQSVLSTSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGHGTKLEIK	Cadena de V_L de BCMA-1 (aa)
117	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSLKTNLAWYQQKPGQAPRLLIYAASTRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQQYGSSPTFGPGTKLDIK	Cadena de V_L de BCMA-2 (aa)
118	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLRSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYTPLTFGGGTKVEIK	BCMA-3, -46 Cadena VL (aa)
119	AIRMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDIRNSLAWYQQRPGKAPKLLLSAASRLESGVP SRFSGTGSGADYALSISSLQPEDVASYFCQQYYSLPLSFGGGTRVEIK	Cadena de V_L de BCMA-4 (aa)
120	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPWTFGQGTKVEIK	Cadena de V_L de BCMA-5 (aa)
121	DIVMTQSPSSLSVSVGERVTITCRASQSISNSLAWYKQRPGEAPKLLIHAASNVESGVP SRFSGRGSGTVFTLAISNVQPEDEATYYCQQSHMYPFTFGQGTKVEIK	Cadena de V_L de BCMA-6 (aa)
122	VIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGDYLAWFQQRPGKAPKSLIYVASTLQSGVP SRFSGSGSGTEFTLTINSLQPEDFATYYCQQYHSFPTTFGPGTKVDIK	Cadena de V_L de BCMA-7 (aa)
123	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLEIK	Cadena de V_L de BCMA-8 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
124	SYELTQPPSVSVAPGQTARVTCGARNIGSKSVHWYQQKPGQAPMLVVYDDDDRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHVWDRSRDHYVFGTGTKLTVL	Cadena de V_L de BCMA-9 (aa)
125	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIERKSVHWYQQKPGQAPVPVVYDDSDRASGIPE RFSASNSGNTATLTISGAQAEDEADYYCQAWDSSTLXVFGTGTKLTVL	Cadena de V_L de BCMA-10 (aa)
126	QLVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNAVNWYQQLPGTAPEVLIYNSHQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLRGYVFGTGTKLTVL	Cadena de V_L de BCMA-11 (aa)
127	QSALTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSRSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDWAKRPSGI PDRFSGSKSGTSATLDIAGLQTGDEADYYCQVWDSSSDHWVFGGGTKLTVL	Cadena de V_L de BCMA-12 (aa)
128	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLSVSPGERATISCKSSQSVLSTSNNKNYLAWYQQ KPGQPPRLLIYWASTREAGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFSSPYT FGHGTKLEIK	scFv de BCMA-1 (aa)
129	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPPSSDIWGQGTMVTVSS GGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGETATLSCRASQSIKTNLAWYQQKPGQAP RLLIYAASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGRGTKL EIK	scFv de BCMA-2 (aa)
130	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLVVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYTTPLT FGGGTKVEIK	BCMA-3, 46 scFv (aa)
131	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSGGGSAIRMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDIRNSLAWYQQRPGKAP KLLLSAASRLESGVPSRFSGTTSGADYALSISSLQPEDVASYFCQQYYSLPLSFGGGTK VEIK	scFv de BCMA-4 (aa)
132	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPWT FGQGTKVDIK	scFv de BCMA-5 (aa)
133	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSGGGSDIVMTQSPSSLSVSVGERVTITCRASQSISNSLAWYKQRPGEAP KLLIHAASNVEDGVPSRFSGRGSGTVFTLAISNVQPEDFATYYCQQSHNYPFTFGGGTK VEIK	scFv de BCMA-6 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
134	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAFTDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSVIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISDYLAWFQQPPGKAP KSLIYVASTLQSGVPSRFSGSGSGTHFTLTISSLQPEDFATYYCQQYHSHPWTFGPGTK VDIK	scFv de BCMA-7 (aa)
135	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIPSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAFTDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYT FGQGTKLEIK	scFv de BCMA-8 (aa)
136	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYVDDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVAPGQTARVTCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPM LVVYDDDDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHVWDRSRDHYVFGTGT KLTVL	scFv de BCMA-9 (aa)
137	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPFSFDIWGQGTMVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIERKNVHWYQQKPGQAFV PVVYDDSDRASGIPERFSASNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCQAWDSSTLVVFGGGT KLTVL	scFv de BCMA-10 (aa)
138	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRRAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDIGPGYGFDAFDIWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQLVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNAVNWYQQL PGTAPKVLIYNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLRGY VFGTGTKLTVL	scFv de BCMA-11 (aa)
139	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPFSFDIWGQGTMVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSRSNIGNNYVSWYQQLPGTA PKLLIYDNAKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCQVWDGSSDHWVFGG GTKLTVL	scFv de BCMA-12 (aa)
140	SYAMH	CDR-H1 de BCMA-13 (aa) Numeración de Kabat
141	SYGMH	BCMA-14, -15 CDR-H1 (aa) Numeración de Kabat
142	SSAMQ	CDR-H1 de BCMA-16 (aa) Numeración de Kabat
143	SYWMS	CDR-H1 de BCMA-18 (aa) Numeración de Kabat
144	SYYMH	CDR-H1 de BCMA-19 (aa) Numeración de Kabat
145	ViSYDGSNKYYADSVKG	BCMA-13, -14, -15 CDR-H2 (aa) Numeración de Kabat
146	WIWGSGNTNYAQKFQE	CDR-H2 de BCMA-16 (aa) Numeración de Kabat

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
147	HINQDGSEKYYVDSVKG	CDR-H2 de BCMA-18 (aa) Numeración de Kabat
148	WINPNSGGTNYAQKFQG	CDR-H2 de BCMA-19 (aa) Numeración de Kabat
149	LPGRDGYPGAFDY	BCMA-13, -14 CDR-H3 (aa)
150	DQYSSSAQRADFDY	CDR-H3 de BCMA-15 (aa)
151	APYYDILTGYYL	CDR-H3 de BCMA-16 (aa)
152	EADSSADY	BCMA-17, -33 CDR-H3 (aa)
153	WLAVTN	CDR-H3 de BCMA-18 (aa)
154	DGGDV	CDR-H3 de BCMA-19 (aa)
155	GGLGITPYYFDY	BCMA-20, -27 CDR-H3 (aa)
156	VDGGYTEDY	CDR-H3 de BCMA-21 (aa)
157	VDGDYTEDY	BCMA-22, -23, -40 CDR-H3 (aa)
158	GFTFSSY	BCMA-13, -14, -15, -18 CDR-H1 (aa) Numeración de Chothia
159	GFTFTSS	CDR-H1 de BCMA-16 (aa) Numeración de Chothia
160	GYTFTSY	CDR-H1 de BCMA-19 (aa) Numeración de Chothia
161	SYDGSN	BCMA-13, -14, -15 CDR-H2 (aa) Numeración de Chothia
162	WGSGN	CDR-H2 de BCMA-16 (aa) Numeración de Chothia
163	NQDGSE	CDR-H2 de BCMA-18 (aa) Numeración de Chothia
164	NPNSGG	CDR-H2 de BCMA-19 (aa) Numeración de Chothia
165	GFTFSSYAMH	CDR-H1 de BCMA-13 (aa) Numeración AbM
166	GFTFSSYGMH	BCMA-14, -15 CDR-H1 (aa) Numeración AbM
167	GFTFTSSAMQ	CDR-H1 de BCMA-16 (aa) Numeración AbM
168	GFTFSSYWMS	CDR-H1 de BCMA-18 (aa) Numeración AbM

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
169	GYTFTSYYMH	CDR-H1 de BCMA-19 (aa) Numeración AbM
170	VISYDGSNKY	BCMA-13, -14, -15 CDR-H2 (aa) Numeración AbM
171	WIWGSGNTN	CDR-H2 de BCMA-16 (aa) Numeración AbM
172	HINQDGSEKY	CDR-H2 de BCMA-18 (aa) Numeración AbM
173	WINPNSGGTN	CDR-H2 de BCMA-19 (aa) Numeración AbM
174	GSGSNIGSNDVS	BCMA-13, -14, -15, -16, -18, -21 CDR-L1 (aa)
175	GGNNIGFKGVQ	BCMA-17, -33 CDR-L1 (aa)
176	TGTSSDVGDYNYVA	CDR-L1 de BCMA-19 (aa)
177	SGGKTVN	BCMA-20, -27 CDR-L1 (aa)
178	TGSSSDVGKYNLVS	BCMA-22, -23 CDR-L1 (aa)
179	WNDQRPS	BCMA-13, -14, -15, -16, -18, -21 CDR-L2 (aa)
180	DDSDRPS	BCMA-17, -32, -33 CDR-L2 (aa)
181	EVINRPS	CDR-L2 de BCMA-19 (aa)
182	SNDQRPS	BCMA-20, -27 CDR-L2 (aa)
183	DVNKRPS	BCMA-22, -23, -40 CDR-L2 (aa)
184	AAWDDSLGGSWV	CDR-L3 de BCMA-13 (aa)
185	AAWDDRLNGFWV	CDR-L3 de BCMA-14 (aa)
186	AAWDDSLSGWV	CDR-L3 de BCMA-15 (aa)
187	ASWDDSLSGWV	CDR-L3 de BCMA-16 (aa)
188	QVWDSASDHWV	BCMA-17, -33 CDR-L3 (aa)
189	AAWDDSLNGWV	CDR-L3 de BCMA-18 (aa)
190	ISYSRGSTPYV	CDR-L3 de BCMA-19 (aa)
191	GSWDDSLNAWV	BCMA-20, -27 CDR-L3 (aa)
192	AAWDDSLNGYV	CDR-L3 de BCMA-21 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
193	CSYGGSRSYV	BCMA-22, -40 CDR-L3 (aa)
194	SSYGGSRSYV	CDR-L3 de BCMA-23 (aa)
195	QMQLVQYGGGWQPGRSLRLSCAASGFTFS	FR1 de VH de BCMA-13 (aa)
196	EVQLLESGGGWQPGRSLRLSCAASGFTFS	FR1 de VH de BCMA-14 (aa)
197	QVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-15, -47 FR1 de VH (aa)
198	EVQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCKASGFTFT	FR1 de VH de BCMA-16 (aa)
199	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-17, -33, -36, -38, -41 FR1 de VH (aa)
200	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	FR1 de VH de BCMA-18 (aa)
201	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	FR1 de VH de BCMA-19 (aa)
202	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD	FR1 de VH de BCMA-20 (aa)
203	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFS	FR1 de VH de BCMA-21 (aa)
204	WVRQAPGKGLEWVA	BCMA-13, -14, -15 FR2 de VH (aa)
205	WVRQARGQRLEWIG	FR2 de VH de BCMA-16 (aa)
206	WIRLAPGKGLEWVS	FR2 de VH de BCMA-17 (aa)
207	WHRQAPGKGPEWVA	FR2 de VH de BCMA-18 (aa)
208	WVRQAPGQGLEWMG	FR2 de VH de BCMA-19 (aa)
209	WVRQAPGKGLEWVS	BCMA-20, -27, -28, -29, -30, -34, -39 FR2 de VH (aa)
210	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCAT	FR3 de VH de BCMA-13 (aa)
211	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT	FR3 de VH de BCMA-14 (aa)
212	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	FR3 de VH de BCMA-15 (aa)
213	RVTITRDMSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAA	FR3 de VH de BCMA-16 (aa)
214	RFTISRDNAESSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	FR3 de VH de BCMA-18 (aa)
215	RVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR	FR3 de VH de BCMA-19 (aa)
216	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAK	BCMA-20, -27 FR3 de VH (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
217	RGQGTLVTVSS	FR4 de VH de BCMA-13 (aa)
218	RGPGTLVTVSS	FR4 de VH de BCMA-14 (aa)
219	WGQGTLVNVSS	BCMA-17, -33 FR4 de VH (aa)
220	WGQGTTVTVSS	FR4 de VH de BCMA-19 (aa)
221	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISC	BCMA-13, -14 FR1 de VL (aa)
222	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC	BCMA-15, -18, -21 FR1 de VL (aa)
223	QSALTQPPSASGTPGQRVTISC	FR1 de VL de BCMA-16 (aa)
224	QPVLTQPPSVSVAPGKTAMITC	BCMA-17, -33 FR1 de VL (aa)
225	QAVLTQPASVSGSPGQSITISC	FR1 de VL de BCMA-19 (aa)
226	QPVLTQPPSASGTPGQRVTISC	BCMA-20, -27 FR1 de VL (aa)
227	QSALTQPASVSGSPGQSITISC	BCMA-22, -23, -40 FR1 de VL (aa)
228	WYQQIPGTAPKLLIY	BCMA-13, -14, -15, -16, -18, -21 FR2 de VL (aa)
229	WYQQKTGQAPVLWY	BCMA-17, -33 FR2 de VL (aa)
230	WYQQHPGKDPKLMIF	FR2 de VL de BCMA-19 (aa)
231	WFRQVPGTAPQLLIY	BCMA-20, -27 FR2 de VL (aa)
232	WYQQPPGKAPKLIIY	BCMA-22, -23, -40 FR2 de VL (aa)
233	GVPDRFSASKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-13 (aa)
234	GVPDRFSGSKSGASASLAISGLQSEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-14 (aa)
235	GVPDRFSGSKSGTSASLVISGLRSEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-15 (aa)
236	GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-16 (aa)
237	GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC	BCMA-17, -33 FR3 de VL (aa)
238	GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-18 (aa)
239	GVSDRFSGSKSGNTASLDISGLQPEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-19 (aa)
240	GVPDRFSGSKSGSSASLDISGLQSEDEAYYYC	BCMA-20, -27 FR3 de VL (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
241	GVPDRFSGSKSGISASLAISGLRSEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-21 (aa)
242	GVSNRFSGSKSGNTATLTISGLQGDDEADYYC	BCMA-22, -23, -40 FR3 de VL (aa)
243	FGGGTKVTVL	FR4 de VL de BCMA-13 (aa)
244	IGTGTKVTVL	FR4 de VL de BCMA-19 (aa)
245	FGGETKLTVL	BCMA-20, -27 FR4 de VL (aa)
246	FGTGTKVTVL	BCMA-21, -22, -23 FR4 de VL (aa)
247	QMQLVQYGGGVVQPGPSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATLPGRDGYPGAFDYRGQGTLV TVSS	Cadena de V_H de BCMA-13 (aa)
248	EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATLPGRDGYPGAFDYRGPGTLV TVSS	Cadena de V_H de BCMA-14 (aa)
249	QVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDQYSSSAQPADFDYWGQGTL VTVSS	Cadena de V_H de BCMA-15 (aa)
250	EVQLVQSGFEVKKPGTSVKVSCKASGFTFTSSAMQWVRQARGQRLEWIGWIVVGSGNTN YAQKFQERVTITRDMSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAAEYYDILTGYYLWGQGTLVT VSS	Cadena de V_H de BCMA-16 (aa)
251	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRLAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSAIDSSADYWGQGTLVTVSS	Cadena de V_H de BCMA-17 (aa)
252	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWHRQAPGKGPEWVAHINQDGSEKY YVDSVKGRFTISRDNAESSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWLAVTWWGQGTLVTVSS	Cadena de V_H de BCMA-18 (aa)
253	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPYSGGTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDGGDVWGQGTTVTVSS	Cadena de V_H de BCMA-19 (aa)
254	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKGGLGITFYYFDYWGQGTLVT VSS	Cadena de V_H de BCMA-20 (aa)
255	EVQLVESGGGLVKPGGSLXLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGGYTEDYWGQGTLVTVSS	Cadena de V_H de BCMA-21 (aa)
256	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYTEDYWGQGTLVTVSS	BCMA-22, -23, -40 Cadena de V_H (aa)
257	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQLPGTAPKLLIYSNDQRPSGV PDRFSASKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLGGSWVFGGGTKVTVL	Cadena de V_L de BCMA-13 (aa)
258	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQLPGTAPKLLIYSNDQRPSGV PDRFSGSKSGASASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDRLNGFWVFGGGTKLTVL	Cadena de V_L de BCMA-14 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
259	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQIPGTAPKLLIYWNIQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLVISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGWVFGGGTKLTVL	Cadena de V_L de BCMA-15 (aa)
260	QSALTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQIPGTAPKLLIYWNIQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCASWDDSLSGWVFGGGTKLTVL	Cadena de V_L de BCMA-16 (aa)
261	QPVLTQPSSVSVAPGKTAMITCGGNNIGFKGVQWYQQKTGQAPVLVVYDDSDRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSASDHWVFGGGTKLTVL	BCMA-17, -33 Cadena de V_L (aa)
262	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL	Cadena de V_L de BCMA-18 (aa)
263	QAVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGDYNYVAWYQQHPGKDPKLMIFEVTKRPSG VSDRFSGSKSGNTASLDISGLQPEDEADYYCISYSRSSTPYVIGTGTKVTVL	Cadena de V_L de BCMA-19 (aa)
264	QPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGNTYNWFRQVPSTAPQLLIYSNDQRPSGVPDRFSG SKSGSSASLDISGLQSEDEAYYYCGSWDDSLNAWVFGGETKLTVL	BCMA-20, -27 Cadena de V_L (aa)
265	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGV PDRFSGSKSGISASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVL	Cadena de V_L de BCMA-21 (aa)
266	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLVSWYQQFPGKAPKLLIYDVNKRPSG VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQGDDEADYYCCSYGGSRSYVFGTGTKVTVL	Cadena de V_L de BCMA-22 (aa)
267	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLVSWYQQFPGKAPKLLIYDVNKRPSG VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQGDDEADYYCCSYGGSRSYVFGTGTKVTVL	Cadena de V_L de BCMA-23 (aa)
268	QMQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATLPGRDGYFQAFDYRGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQI PGTAPKLLIYWNIQRPSGVPDRFSASKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLGGS WVFGGGTKVTVL	scFv de BCMA-13 (aa)
269	EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATLPGRDGYFQAFDYPGPGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQI PGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKSGASASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDRLNGP WVFGGGTKLTVL	scFv de BCMA-14 (aa)
270	QVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKIQYSSSAQRADFDYWGQGTL VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQ IPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLVISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSG WVFGGGTKLTVL	scFv de BCMA-15 (aa)
271	EVQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCKASGFTFTSSAMQWVRQARGQRLEWIGWIVVGSGNTN YAQKFQERVTITRDMSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAAPYDILTGYYLRGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQLP GTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLSGWV FGGGTKLTVL	scFv de BCMA-16 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
272	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRLAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREADSSADYWGQGTLVNVSSG GGGSGGGGSGGGGSQPVLTQPPSVSVAPGKTANITCGGNNIGFKSVQWYQQKTGQAPVL VVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSASDRWVFGGGTK LTVL	scFv de BCMA-17 (aa)
273	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWHRQAPGKGPEWVAHINQDGSEKY YVDSVKGRFTISRDNAESSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWLAVINWGQGTLVTVSSGGG GSGGGSGGGGSQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVSWYQQIPGTAPKL LIYWNDQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTK LTVL	scFv de BCMA-18 (aa)
274	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDGGDVWGQGTTVTVSSGGGG SGGGSGGGGSQAVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGDYNYVAWYQQHPGKDPKL MIFEVIKRPSGVSDRFSGSKSGNTASLDISGLQPEDEADYYCISYSPSSTFYVIGTGTK VTVL	scFv de BCMA-19 (aa)
275	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKGGLGITPYYFDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGKTVNNFRQVFGTAPQL LIYSNDQRPSGVPDRFSGSKSGSSASLDISGLQSEDEAYYYCGSWDDSLNAWVFGGETK LTVL	scFv de BCMA-20 (aa)
276	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGGYTEDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVSWYQQIPGTA PKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKSGISASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGT GTKVTVL	scFv de BCMA-21 (aa)
277	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYTEDYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLVSWYQQPPGK APKLIIYDVNKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQGDDEADYYCCSYGGSRSYVFGT GTKVTVL	scFv de BCMA-22 (aa)
278	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYTEDYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLVSWYQQPPGK APKLIIYDVNKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQGDDEADYYCSSYGGSRSYVFGT GTKVTVL	scFv de BCMA-23 (aa)
279	VDGDDAFDI	CDR-H3 de V_H-3 (aa)
280	DPLSWDSSGKGPR	CDR-H3 de V_H-4 (aa)
281	ENYDFWSWRYYYDMDV	CDR-H3 de V_H-5 (aa)
282	VDGPPSYDI	CDR-H3 de V_H-6 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
283	GDWDDAFDI	CDR-H3 de V_H-7 (aa)
284	VDGDYEDY	CDR-H3 de V_H-9 (aa)
285	DVPSSGDDAFDI	CDR-H3 de V_H-10 (aa)
286	VDGDDVFDI	CDR-H3 de V_H-11 (aa)
287	VDGDAFDI	CDR-H3 de V_H-12 (aa)
288	DYSIN	CDR-H1 de V_H de BCMA-C1 (aa)
289	NFGMN	CDR-H1 de V_H de BCMA-C2 (aa)
290	WINTETREPAYAYDFRG	CDR-H2 de V_H de BCMA-C1 (aa)
291	WINTYTGESYFADDFKG	CDR-H2 de V_H de BCMA-C2 (aa)
292	DYSYAMDY	CDR-H3 de V_H de BCMA-C1 (aa)
293	GEIYYGYDGGFAY	CDR-H3 de V_H de BCMA-C2 (aa)
294	GYTFTDY	CDR-H1 de V_H de BCMA-C1 (aa) Numeración de Chothia
295	GYTFTNF	CDR-H1 de V_H de BCMA-C2 (aa) Numeración de Chothia
296	NTETRE	CDR-H2 de V_H de BCMA-C1 (aa) Numeración de Chothia
297	NTYTGE	CDR-H2 de V_H de BCMA-C2 (aa) Numeración de Chothia
298	GYTFTDYSIN	CDR-H1 de V_H de BCMA-C1 (aa) Numeración AbM
299	GYTFTNFGMN	CDR-H1 de V_H de BCMA-C2 (aa) Numeración AbM
300	WINTETREPA	CDR-H2 de V_H de BCMA-C1 (aa) Numeración AbM
301	WINTYTGESY	CDR-H2 de V_H de BCMA-C2 (aa) Numeración AbM
302	RASESVTILGSHLIH	CDR-L1 de VL de BCMA-C1 (aa)
303	RASQDVNTAVS	CDR-L1 de VL de BCMA-C2 (aa)
304	LASNVQT	CDR-L2 de VL de BCMA-C1 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
305	SASYRYT	CDR-L2 de VL de BCMA-C2 (aa)
306	LQSRTIPRT	CDR-L3 de VL de BCMA-C1 (aa)
307	QQHYSTPWT	CDR-L3 de VL de BCMA-C2 (aa)
308	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFT	FR1 de V_H de BCMA-C1 (aa)
309	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFT	FR1 de V_H de BCMA-C2 (aa)
310	WVKRAPGKGLKWMG	FR2 de V_H de BCMA-C1 (aa)
311	WVKQAPGKGFKWMA	FR2 de V_H de BCMA-C2 (aa)
312	RFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCAL	FR3 de V_H de BCMA-C1 (aa)
313	RFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCAR	FR3 de V_H de BCMA-C2 (aa)
314	WGQGTSVTVSS	FR4 de V_H de BCMA-C1 (aa)
315	WGQGTLVTVSA	FR4 de V_H de BCMA-C2 (aa)
316	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISC	FR1 de V_L de BCMA-C1 (aa)
317	DWMTQSHRFMSTSVGDRVSITC	FR1 de V_L de BCMA-C2 (aa)
318	WYQQKPGQPPTLLIQ	FR2 de V_L de BCMA-C1 (aa)
319	WYQQKPGQSPKLLIF	FR2 de V_L de BCMA-C2 (aa)
320	GVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYC	FR3 de V_L de BCMA-C1 (aa)
321	GVPDRFTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYC	FR3 de V_L de BCMA-C2 (aa)
322	FGGGTKLEIK	FR4 de V_L de BCMA-C1 (aa)
323	FGGGTKLDIK	FR4 de V_L de BCMA-C2 (aa)
324	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSIDWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPA YAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS	Cadena de V_H de BCMA-C1 (aa)
325	QTQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGFKWMAWINTYTGESY FADDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGTLV TVSA	Cadena de V_H de BCMA-C2 (aa)
326	DIVLTQSPPSLAMSLGERATISCRASESVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQ TGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	Cadena de V_L de BCMA-C1 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
327	[illegible]	Cadena de VL de BCMA-C2 (aa)
328	[illegible]	scFv de VL-VH de BCMA-C1 (aa)
329	[illegible]	scFv de VH-VL de BCMA-C2 (aa)
330	[illegible]	scFv de BCMA-1 (nt)
331	[illegible]	scFv de BCMA-2 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
332	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACT CTCCTGTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATGCTATGAGCTGGTTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAAAGCTTATGGTGGGACA ACAGAATACGCCGCGTCTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAG CATCGCCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTG CGGCCTGGAGTCCCCGACTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGATATTGTGATGAC CCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGT CCAGCCAGAGTGTTTTACACAGCTCCAACAATAAGAATTACTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGT CCCTGACCGTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTATTATACTACTCCGCTCACT TTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA	scFv de BCMA-3 (nt)
333	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACT CTCCTGTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATGCTATGAGCTGGTTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAAAGCTTATGGTGGGACA ACAGAATACGCCGCGTCTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAG CATCGCCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTG CGGCCTGGAGTCCCCGACTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGAC CCAGTCTCCATCCTCCCTGTCCGCGTCTGTAGGGGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG CGAGTCAGGACATTAGCAATTCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCT AAACTCCTGCTTTCTGCTGCATCCAGATTGCAAAGTGGGGTCCCTTCTAGGTTCAGTGG CAGTACTTCTGGGACGGAGTATGCTCTCAGCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTCG CAACTTACTTCTGTCAGCAGTATTATAGTCTCCCTCTCTCCTTCGGCGGAGGGACCAAG GTGGAAATCAAA	scFv de BCMA-4 (nt)
334	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACT CTCCTGTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATGCTATGAGCTGGTTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAAAGCTTATGGTGGGACA ACAGAATACGCCGCGTCTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAG CATCGCCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTG CGGCCTGGAGTCCCCGACTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGACATCCGTGATGAC CCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGT CCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGT CCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATTATAGTACTCCGTGGACG TTCGGCCAAGGGACCAAGCTGGAATATCAAA	scFv de BCMA-5 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
335	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACT CTCTCCTGTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGGTGATTATGCTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCT CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAGGCAAAGCTTATGGTGGGACA ACAGAATACGCCGCGTCTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTCAAAAAG CATCGCCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGTG AGAGGCTGGAACTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGAGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGCGGATCTGACATCCAGATGACC CAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA AGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTACACTTTCGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATC AAA	scFv de BCMA-6 (nt)
336	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACT CTCTCCTGTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGGTGATTATGCTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCT CCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAGGCAAAGCTTATGGTGGGACA ACAGAATACGCCGCGTCTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTCAAAAAG CATCGCCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGTG AGAGGCTGGAACTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGAGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGCGGATCTGACATCCAGATGACC CAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA AGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTACACTTTCGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATC AAA	scFv de BCMA-7 (nt)
337	CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACT CTCCTGTACAGCTTCGGATTCACCTTTGGTAGTTATGCTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCT CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAGGCAAAGCTTATGGTGGGACA ACAGAATACGCCGCGTCTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTCAAAAAG CATCGCCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGTG AGAGGCTGGAACTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGAGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGCGGATCTGACATCCAGATGACC CAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA AGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTACACTTTCGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATC AAA	scFv de BCMA-8 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
338	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTATGCCATGTCTTGGGTTCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTGGTAGTAGTACCATATACTAC GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGTAT CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGG TGGAACGGGACTACGTCCACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCT AGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGC ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGG AACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGA CTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCG TCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG GTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAG AAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	scFv de BCMA-9 (nt)
339	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTATGCCATGTCTTGGGTTCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTGGTAGTAGTACCATATACTAC GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGTAT CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGG TGGAACGGGACTACGTCCACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGT GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGTGCTGACT CAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGGAGC AGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGGAACAGCC CCCAAACTCCTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCT GGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAG GCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAGCAGCCTGAGTGGTTCGGTATTCGGCGGAGGG ACCAAGCTGACCGTCCTAGGTGCGGCCGCAGAACAAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTG AATGGTGCAGCCACAGTTCGTTTGATTTCCAACCTTGGTCCCATTCCTCCCGCAGCCCAA TAGTAAGCATTCATGTCATAATGCTTATTCTGTTGCCACCAGTTGCCAAGCCTATCCCTC AACAGCCCCTGTCTCCTGCAGGCCGTCACTGATTCGAACGCTGATCGTTCAAACATTTGC AACAAAGCCTTTCTCAACTCTGGTCCTTCCTAACCAACTCTGTTCTCCTCGCTCCTCTGA GAGCTTCAACAAGGGGGAGTGTTAG	scFv de BCMA-10 (nt)
340	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTCTCTGAGGATC TCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTGGGTGCGCCAGATG CCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACTCTGATACCAGATACAG CCCGAGCTTCCAAGGCCACGATCTCAGCCGACAAGTCCATCAGCACCGCCTACCTGCAG TGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGACATAGTGGGTAT AGCTACGGCTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGC ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACA GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAC TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTC TACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACG TACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACC AAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	scFv de BCMA-11 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
341	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCATATAC TACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAAG TGGATGGCCCTCCTTCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGAC CCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAA GCCGCTCCAACATTGGGAATAATTATGTATCCTGGTACCAACAGCTCCCAGGAACAGCC CCCAAACTCCTCATTTATGACAATGCTAAGCGACCCTCAGGAATTCCTGACCGATTCTC TGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGACATCGCCGGACTCCAGACTGGGGATG AGGCCGACTATTACTGTCAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGATCATTGGGTATTCGGCGGA GGGACCAAGCTCACCGTCCTA	scFv de BCMA-12 (nt)
342	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCTATGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCTACCC TACCCGGTAGAGATGGCTACCCCGGAGCCTTTGACTACAGGGGCCAGGGAACCCTGGTC ACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCA GCCTGTGCTGACTCAGCCACCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCT CTTGTTCTGGAAGCGGCTCCAACATCGGAAGTAATGATGTCTCTTGGTATCAGCAGATC CCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTACTGGAATGATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCC TGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCC GGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAGTGGTTCT TGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	scFv de BCMA-13 (nt)
343	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCTACCC TACCCGGTAGAGATGGCTACCCCGCAGCCTTTGACTACAGGGGCCCAGGGAACCCTGGTC ACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCA GGCTGTGCTGACTCAGCCGCCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCT CTTGTTCTGGAAGCGGCTCCAACATCGGAAGTAATGATGTCTCTTGGTATCAGCAGATC CCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTACTGGAATGATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCC TGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCGCCTCAGCCTCTCTGGCCATCAGTGGGCTCG AGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAAGGGTTTT TGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	scFv de BCMA-14 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
344	CAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGA ATCGATATAGCACTAGCGGCGCAGACGCCGACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTG GTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCC AAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA CCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCAGCAGC TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATG ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCC CCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	scFv de BCMA-15 (nt)
345	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGTAGCTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGA CTACGACATTTTGACTGGTTATTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCAC GGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATG ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCC CCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	scFv de BCMA-16 (nt)
346	CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCAGAGGTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTACGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGAG AGGCGATATAGCACTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCAC GGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATG ATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCC CCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA	scFv de BCMA-17 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
347	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACGTTTAGTAGCTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGC GGTTCAGGCGGTACTAACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCGAGCGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGACATCCAG ATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGC CGGGCAAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCC CCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGT GGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATT GCAACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAG GTGGAGATCAAA	scFv de BCMA-18 (nt)
348	CAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTT TCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGTGCGACAGG CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAAAC TATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCC TACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGG ATGGTTCGGGGAGTTATCCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGGT GGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGAAATTGTGTTGACGCAG TCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGT CAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGG CTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGT GGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTG TATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA	scFv de BCMA-19 (nt)
349	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGTAGCTATGCTATGAGCTGGGTCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATAC TACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGG GGGCCTACAGCAATAACCCGATACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTCTCGAGCGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGACATC CAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACT GTTTGCCGGGCAAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGGG AAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGG TTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAA GATATTGCAACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGG ACCAAGGTGGAGATCAAA	scFv de BCMA-20 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
350	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCATATAC TACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAAG TAGACGGAGGCTACAGAGAGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGACATCGAGTCTGT GACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCGGGGAGAGGCTCACCATCTCTTGTTCTGGAA GCGGCTCCAACATCGGAAGTAATGATGTCTCCTGGTATCAGCAGATCCCAGGAACGGCC CCCAAACTCCTCATCTACTGGAATGATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGGTTCTC AGGCTCCAAGTCTGGCACATCTGCCTCCCTGGCCATCAGCGGGCTCCGGTCCGAGGATG AGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTATGTCTTCGGAACT GGGACCAAGGTCACCGTCCTA	scFv de BCMA-21 (nt)
351	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCATATAC TACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAAG TAGACGGAGGCTACAGAGAGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGAC TCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACTATCTCCTGCACTGGAA GCAGCAGTGATGTTGGCAAATATAATCTTGTCTCCTGGTACCAACAGCCCCCAGGCAAA GCCCCCAAGCTCATAATTTATGACGTCAATAAGCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTT CTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCACCCTGACAATCTCTGGGCTCCAGGCTGACG ACGAGGCTGATTATTATTGTAGCTCATATGGAGGTAGTAGGTCTTATGTCTTCGGAACT GGGACCAAGGTGACCGTCCTA	scFv de BCMA-22 (nt)
352	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCATATAC TACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAAG TAGACGGAGGCTACAGAGAGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGAC TCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACTATCTCCTGCACTGGAA GCAGCAGTGATGTTGGCAAATATAATCTTGTCTCCTGGTACCAACAGCCCCCAGGCAAA GCCCCCAAGCTCATAATTTATGACGTCAATAAGCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTT CTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCACCCTGACAATCTCTGGGCTCCAGGCTGACG ACGAGGCTGATTATTATTGTAGCTCATATGGAGGTAGTAGGTCTTATGTCTTCGGAACT GGGACCAAGGTGACCGTCCTA	scFv de BCMA-23 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
353	$X_1X_2X_3MX_4$ X_1 = D o S; X_2 = Y o S; X_3 = A, G, W o Y; X_4 = H, Q o S	Consenso CDR-H1
354	$X_1IX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}YX_{12}$ X_{13} X_{14} X_{15} X_{16} X_{17} X_1 = F, G, H, V, W o Y; X_2 = N, R, S o V; X_3 = P, Q, S, V, W o Y; X_4 = K o nulo; X_5 = A o nula; X_6 = D, G, N, S o Y; X_7 = G o S; X_8 = G o S; X_9 = E, G, N, T o S; X_{10} = I, K o T; X_{11} = E, G, N o Y; X_{12} = A o V; X_{13} = A, D o Q; X_{14} = K o S; X_{15} = F o V; X_{16} = K o Q; X_{17} = E o G	Consenso CDR-H2

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
355	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ X_1 = A, D, E, G, L, V o W; X_2 = A, D, G, L, P, Q o S; X_3 = A, D, G, L o Y; X_4 = D, G, P, R, S, V, Y o nulo; X_5 = D, I, P, S, T, Y o nulo; X_6 = A, G, I, S, T, V, Y o nulo; X_7 = A, D, E, F, L, P, S, Y o nulo; X_8 = P, Q, T, Y o nulo; X_9 = D, G, R, Y o nulo; X_{10} = A, F, Y o nulo; X_{11} = D, F o nulo; X_{12} = F o nulo; X_{13} = D, T o Y; X_{14} = I, L, N, V o Y	Consenso CDR-H3
356	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ X_{15} X_{16} X_{17} X_1 = G, K, R, S o T; X_2 = A, G o S; X_3 = G, N, S o T; X_4 = G, K, N, Q, R o S; X_5 = S o nulo; X_6 = D, N, V o nulo; X_7 = L, V o nulo; X_8 = H, S, Y o nulo;	Consenso CDR-L1

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
	X_9 = S, T o nulo; X_{10} = S o nulo; X_{11} = D, G, I, N, S o nulo; X_{12} = D, E, G, K, I, N o nulo; X_{13} = F, G, K, N, R, S, Y o nulo; X_{14} = D, K, N, T o nulo; X_{15} = A, D, G, L, N, S, T o Y; X_{16} = L o V; X_{17} = A, H, N, Q o S	
357	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ X_1 = A, D, E, N, S, V o W; X_2 = A, D, N, S o V; X_3 = A, D, H, I, N o S; X_4 = D, K, N, Q, R o T; X_5 = L, R o V; X_6 = A, E, P o Q; X_7 = A, D, S o T	Consenso CDR-L2
358	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ X_1 = A, C, G, H, I, Q o S; X_2 = A, Q, S o V; X_3 = S, W o Y; X_4 = D, F, G, H o Y; X_5 = D, G, M, R, S o T; X_6 = A, G, H, L, R, S, T o Y; X_7 = L, P, R, S o nulo; X_8 = D, G, N, R, S, T o nulo; X_9 = A, G, H, L, P o nulo; X_{10} = F, S o nulo; X_{11} = L, P, W o Y; X_{12} = S, T o V	Consenso CDR-L3
359	GGGGS	Enlazador de 4GS (aa)
360	GGGS	Enlazador de 3GS (aa)
361	GGGGSGGGGSGGGGS	Enlazador de $(4GS)_3$ (aa)
362	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Enlazador (aa)
363	ESKYGPPCPPCP	Espaciador (bisagra de IgG4) (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
364	gaatctaagtacggaccgcccctgcccccctgccct	Espaciador (bisagra de IgG4) (nt)
365	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG K	Espaciador de bisagra-C_H3 (aa)
366	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	Espaciador de bisagra-C_H2-C_H3 (aa)
367	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTC LGLSLIISLAVFVLMFLLRKISSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRG LEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEI EKSISAR	BCMA humana; N.º de GenBank BAB60895.1
368	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTC LGLSLIISLAVFVLMFLLRKISSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRG LEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEI EKSISAR	BCMA humana; N.º de NCBI NP_001183.2
369	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLPCSSNTPPLTCQRYCNARSCLLGMANIDLEKSR TGDEIILPPGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKS LPAALSATEIEKSISAR	Variante de BCMA humana; N.º de GenBank ABN42510.1
370	MAQQCFHSEYFDSLLHACKPCRLRCSNPEATCQPYCDPSVTSSVKGTYTVLWIFLGLFL VLSLALFTISFLLRKMNPEALKDEPQSHCQLDGSAQLDKADTELTPIRAGDDRIFPPSL EYTVEECTCEDCVKSKPKGDSDHFFPLPAMEEGAEIIVTTKTGDYGKSSVPTALQSVMG MEKPTHTR	BCMA de ratón; N.º de NCBI NP_035738.1
371	MLQMAPQCSQNEYFDSLLHDCKPCQLRCSSTPPLTCQRYCNASMENSVKGMNAILWTCL GLSLIISLAVFVLFLLRKMSSEPLKDEFKMTGSGLLGMANIDLEKGRTGDEIVLPRGL EYTVEECTCEDCIRNKPKVDSDHCFPLPAMEEGAEIIVTTKTNDYCNSLPAALSVTEIE KSISAR	BCMA de macaco de la India; N.º de GenBank EHH60172.1
372	GISWNSGSIXYADSVKG	CDR-H2 de BCMA-28 (aa) Numeración de Kabat
373	YISGSGSTIYYADSVKG	CDR-H2 de BCMA-33 (aa) Numeración de Kabat
374	YISSSGNTIYYADSVKG	CDR-H2 de BCMA-41 Numeración de Kabat
375	CIPCQLR	epítopo de BCMA humana (restos 21-27)
376	DLGPPYGDDAFDI	BCMA-24, -28, -29, -39 CDR-H3 (aa)
377	DLDPDDAFDI	CDR-H3 de BCMA-30 (aa)
378	VDGDYDDY	CDR-H3 de BCMA-35 (aa)
379	SNTPPLTCQR	Epítopo de BCMA humana (restos 30-39)
380	RASQGISNYLA	CDR-L1 de BCMA-25 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
381	RSSQSLLHSNGYNYLD	CDR-L1 de BCMA-28 (aa)
382	TGTSSDVGSYNLVS	CDR-L1 de BCMA-29 (aa)
383	RASQPIRSNLA	CDR-L1 de BCMA-30 (aa)
384	KSSQSVLNSSNNKNYVA	CDR-L1 de BCMA-31 (aa)
385	GGNNIGSKGVH	CDR-L1 de BCMA-32 (aa)
386	RASQSISNYLA	CDR-L1 de BCMA-34 (aa)
387	GSSTGPVTSAHSPS	CDR-L1 de BCMA-36 (aa)
388	GSSTGAVTNGHSPY	BCMA-37, -38 CDR-L1 (aa)
389	RASQGIRYELX	CDR-L1 de BCMA-39 (aa)
390	TGSSSDVSKYNLVS	CDR-L1 de BCMA-40 (aa)
391	SGSSSNIGGNSVD	CDR-L1 de BCMA-41 (aa)
392	RASQGIGNGLA	CDR-L1 de BCMA-42 (aa)
393	SVTNSVK	Epítopo de BCMA humana (restos 44-50)
394	KSSQNLLYSSNNKNYLA	CDR-L1 de BCMA-44 (aa)
395	RASQGIGRSLA	CDR-L1 de BCMA-45 (aa)
396	GGNNIGSKSVH	BCMA-47, -48 CDR-L1 (aa)
397	GGDQIGRKSVH	CDR-L1 de BCMA-49 (aa)
398	RASQNIGDWLA	CDR-L1 de BCMA-51 (aa)
399	WGSTRES	CDR-L2 de BCMA-24 (aa)
400	SASTLQS	CDR-L2 de BCMA-25 (aa)
401	LGSNRAS	CDR-L2 de BCMA-28 (aa)
402	EVSKRPS	CDR-L2 de BCMA-29 (aa)
403	SASTRAT	CDR-L2 de BCMA-30 (aa)
404	DASNRAT	CDR-L2 de BCMA-34 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
405	ETTNRHS	CDR-L2 de BCMA-36 (aa)
406	DTTNRHS	CDR-L2 de BCMA-37 (aa)
407	DTNNRHS	CDR-L2 de BCMA-38 (aa)
408	AASTLQS	CDR-L2 de BCMA-39 (aa)
409	ANDRRPS	CDR-L2 de BCMA-41 (aa)
410	CSQNEYF	Epítopo de BCMA humana (restos 8-15)
411	DASSLRS	CDR-L2 de BCMA-45 (aa)
412	YDTDRPS	BCMA-47, -48 CDR-L2 (aa)
413	YDSDRPS	CDR-L2 de BCMA-49 (aa)
414	GASILES	CDR-L2 de BCMA-51 (aa)
415	QQYISLPWT	CDR-L3 de BCMA-24 (aa)
416	QQSYTSRQT	CDR-L3 de BCMA-25 (aa)
417	MQALQTPPWT	CDR-L3 de BCMA-28 (aa)
418	CSYAGSSTSRDV	CDR-L3 de BCMA-29 (aa)
419	RHYAPLT	CDR-L3 de BCMA-30 (aa)
420	QQRSNWPPYT	CDR-L3 de BCMA-34 (aa)
421	HLWDRSRDHYV	BCMA-26, -35 CDR-L3 (aa)
422	LLSSGDARMV	CDR-L3 de BCMA-36 (aa)
423	SLSHAGDRVF	CDR-L3 de BCMA-37 (aa)
424	LLSYSDARLA	CDR-L3 de BCMA-38 (aa)
425	LQHNSYPLT	CDR-L3 de BCMA-39 (aa)
426	ESWDDALNGHV	CDR-L3 de BCMA-41 (aa)
427	QQYVEDALT	CDR-L3 de BCMA-42 (aa)
428	LLHACIPCQLR	Epítopo de BCMA humana (restos 17-27)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
429	QQYYSSPYT	CDR-L3 de BCMA-44 (aa)
430	QQLNGYPWT	CDR-L3 de BCMA-45 (aa)
431	QLWDSDSDDFA	CDR-L3 de BCMA-47 (aa)
432	QVWDSSTGQYW	CDR-L3 de BCMA-49 (aa)
433	QKYDGAPPWT	CDR-L3 de BCMA-51 (aa)
434	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCVASGFTFD	FR1 de VH de BCMA-27 (aa)
435	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFG	FR1 de VH de BCMA-30 (aa)
436	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFG	BCMA-25, -31, -44, -51 FR1 de VH (aa)
437	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-32, -49 FR1 de VH (aa)
438	TGQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD	FR1 de VH de BCMA-34 (aa)
439	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFG	FR1 de VH de BCMA-42 (aa)
440	agctatgagctgacacagcctccaagcgtctctggtccacctggacagcgagtgacaat gagctgtagcggcaccagcagcaacatcggcagccacagcgtgaactggtatcagcagc tgcctggcaccgccctaaactgctgatctacaccaacaaccagcggcctagcggcgtg cccgatcgattttctggcagcaagagcggcaccagcgccagcctggctatttctggact gcagagcgaggacgaggccgactattattgtgccgcctgggacggctccctgaacggcc tgttttggcggaggcaccaagctgacagtgctggatctagaggtggcggaggatct ggcggcggaggaagcggaggcggcggcggatctctgagaatggctgaagtgcagctggtgca gtctggcgccgaagtgaagaagcctggcgagagcctgaagatcagctgcaaggccagcg gctacagcttcaccagctactggatcggctgggtccgacagatgcctggccaaaggcctt gagtggatgggcatcatctaccccggcgacagcgacaccagatacagccctagcttcca gggccacgtgaccatcagcgccgacaagtctatcagcaccgcctacctgcagtggtcca gcctgaaggcctctgacaccgccatgtactactgcgccagatactctggcagctacgac attggggccagggcacactggtcaccgtgtccagc	scFv de BCMA-52 (nt) (O/SSE)
441	RFTISRDNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	FR3 de VH de BCMA-37 (aa)
442	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDGSLNGLVFGGGTKLTVLGSRGGGGS GGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGL EWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVSGSFD YWGQGTLVTVSS	scFv de BCMA-52 (aa)
443	DSPSPGTTPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	FR3 de VH de BCMA-47 (aa)
444	GGQGTMVTVSS	FR4 de VH de BCMA-28 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
445	WRQGTMVTVSS	FR4 de VH de BCMA-47 (aa)
446	DIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTC	FR1 de VL de BCMA-25 (aa)
447	DIVMTQSPLSLSVTPGEPASISC	FR1 de VL de BCMA-28 (aa)
448	QPVLTQPASVSGSPGQSITISC	FR1 de VL de BCMA-29 (aa)
449	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSC	FR1 de VL de BCMA-30 (aa)
450	DVVMTQSPDSLAVSLGERATISC	FR1 de VL de BCMA-31 (aa)
451	QTVVTQPPSVSVAPGQTARITC	FR1 de VL de BCMA-32 (aa)
452	EIVMTQSPATLSLSPGDRATLSC	FR1 de VL de BCMA-34 (aa)
453	NFMLTQPPSVSVAPGQTARITC	FR1 de VL de BCMA-35 (aa)
454	QSVLTQEPSLTVSPGETVTLTC	FR1 de VL de BCMA-36 (aa)
455	QLVLTQEPSLTVSPGGTVTLTC	FR1 de VL de BCMA-37 (aa)
456	QAVLTQEPSLTVSPGGTVTLTC	FR1 de VL de BCMA-38 (aa)
457	DIQXTQSPSSLSASVGDRVTITC	FR1 de VL de BCMA-39 (aa)
458	QPVLTQPPSVSGTPGQRVTIPC	FR1 de VL de BCMA-41 (aa)
459	DIQMTQSPSLVSASVGDRVTITC	FR1 de VL de BCMA-42 (aa)
460	cagtctgccctgacacagcctgccagcgtttagtgctagtcccggacagtctatcgccat cagctgtaccggcaccagctttgacgttggttgtatcagcagtacccctggcaaggccc ctaagctgatgatctacgaggacagcaagaggccagcggcgtgtccaatagattcagc ggcagcaagagcggcaacacggccagcctgaccattagcggactgcaggccgaggacga ggccgattactactgcagcagcaacaccccggtccagcacactggtttttggcggaggca ccaagctgaccgtgctgggatctagaggtggcggaggatctggcggcggaggaagcggа ggcggcggatctttgaaatggctgaagtgcagctggtgcagtctggcgccgaggtgaa gaaacctggcgcctctctgaagcrgagctgcaaggccagcggctacaccttcatcgach	scFv de BCMA-55 (nt) (O/SSE)
	actagtgtactggatgcggcaggcccctggacagggactcgaatctatgggctggatc aaccccaatagcggcggcaccaattacgcccagaaattccagggcagagtgaccatgac cagagacaccagcatcagcaccgcctacatggaactgagccggctgagatccgacgaca ccgccatgtactactgcgccagatctccagccgcggctacatggattattgggccag ggaaccctggtcaccgtgtccagc	
461	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINC	FR1 de VL de BCMA-44 (aa)
462	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTITC	FR1 de VL de BCMA-45 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
463	QAVLTQPPSVSVAPGKTATITC	FR1 de VL de BCMA-47 (aa)
464	QPVLTQPPSVSVAPGKTATITC	FR1 de VL de BCMA-48 (aa)
465	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITC	FR1 de VL de BCMA-49 (aa)
466	AIQLTQSPSTLSASVGDRVAITC	FR1 de VL de BCMA-51 (aa)
467	WYQQKPGNAPRLLIY	FR2 de VL de BCMA-25 (aa)
468	WYLQKPGQSPQLLIY	FR2 de VL de BCMA-28 (aa)
469	WYQQHPGKAPKLMIY	FR2 de VL de BCMA-29 (aa)
470	WYQQKPGQAPKLLIY	FR2 de VL de BCMA-30 (aa)
471	WYKQKPGQPPKLVIS	FR2 de VL de BCMA-31 (aa)
472	WYRQRPGQAPEVVIY	FR2 de VL de BCMA-32 (aa)
473	WFQKKPGQAPTTLIY	FR2 de VL de BCMA-36 (aa)
474	WFQQKPGQAPRTLIY	BCMA-37, -38 FR2 de VL (aa)
475	WYQQKPGKAPKLLIY	FR2 de VL de BCMA-39 (aa)
476	WFQEVPGTAPKLLIY	FR2 de VL de BCMA-41 (aa)
477	WYQQKPGKAPKLLLF	FR2 de VL de BCMA-42 (aa)
478	QSALTQPASVSGSPGQSIAISCTGTSSDVGNYQCHFGKAPKLMIYEDSKRFSGVSNRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGG SGGGLEMAEVQLVESGGEMKKPGASLKLSCKASGYTFTDYYVYWMRQAPGQGLEWMGI MRPSGSTYYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSPEDGYMDYWGQ GTLVTVSS	scFv de BCMA-55 (aa)
479	WYKQKPGGVPQLLIH	FR2 de VL de BCMA-45 (aa)
480	WYQRKPGQGPVVVIQ	BCMA-47, -48 FR2 de VL (aa)
481	WYQQKPGQAPVLVMS	FR2 de VL de BCMA-49 (aa)
482	WYQQKPGKAPKLLIF	FR2 de VL de BCMA-51 (aa)
483	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIYHC	FR3 de VL de BCMA-24 (aa)
484	GVPSRFRGTGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYC	FR3 de VL de BCMA-25 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
485	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	FR3 de VL de BCMA-28 (aa)
486	GVSNRFSGSKSGNTASPTISGLQAEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-29 (aa)
487	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEHEDFAVYYR	FR3 de VL de BCMA-30 (aa)
488	GVPDRFSGSNSGNTATLTVRGVEAGDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-32 (aa)
489	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC	FR3 de VL de BCMA-34 (aa)
490	WTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-36 (aa)
491	WTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYC	FR3 de VL de BCMA-37 (aa)
492	WTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYFC	FR3 de VL de BCMA-38 (aa)
493	GVPSRFSGSGSGTDFALTIRSLQPEDFATYYC	FR3 de VL de BCMA-39 (aa)
494	GVPDRFSGTKSGTSASLAIRGLQSDDDAHYYC	FR3 de VL de BCMA-41 (aa)
495	GVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLQPEDVATYYC	FR3 de VL de BCMA-42 (aa)
496	gaggtgcagctggtgcagtctggagcagaggtgaaaaagcccgggagtctctgaagat ctcctgtaagggttctggatacagctttaccagctactggatcggctgggtgcgccaga tgcccgggaaaggcctggagtggatgggggatcatctatcctggtgactctgataccaga taccagccgtccttccaaggccaggtcaccatctcagctgacaagtccatcagcactgc ctacctgcagtggagcagcctgaaggcctcggacaccgccatgtattactgtgcgcgct acbctggttctttcgataactggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctcagc	Cadena de VH de BCMA-52 (nt)
497	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISGVQSEDSATYHC	FR3 de VL de BCMA-45 (aa)
498	GIPERFSGSKSGDTASLTISGVEAGDEADYYC	FR3 de VL de BCMA-47 (aa)
499	GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEGDYYC	FR3 de VL de BCMA-48 (aa)
500	GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAAYYC	FR3 de VL de BCMA-49 (aa)
501	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVAVYYC	VLFR3 de BCMA-51 (aa)
502	FGPGTRLDIK	FR4 de VL de BCMA-25 (aa)
503	FGXGTKLTVL	FR4 de VL de BCMA-29 (aa)
504	FGQGTKLDIK	BCMA-31, -34 FR4 de VL (aa)
505	FGTGTKLDIK	FR4 de VL de BCMA-35 (aa)
506	FGGGTKVDIK	FR4 de VL de BCMA-42 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
507	SYWIG	CDR-H1 de BCMA-52 (aa) - Numeración de Kabat
508	FGQGTKVEIK	BCMA-24, -28, -51 FR4 de VL (aa)
509	GFTFGDYAMH	CDR-H1 de BCMA-30 (aa) Numeración AbM
510	GISWNSGSIX	CDR-H2 de BCMA-28 (aa) Numeración AbM
511	YISGSGSTIY	CDR-H2 de BCMA-33 (aa) Numeración AbM
512	YISSSGNTIY	CDR-H2 de BCMA-41 Numeración AbM
513	IIYPGDSDTRYSPSFQG	CDR-H2 de BCMA-52 (aa) - Numeración de Kabat
514	SWNSG	CDR-H2 de BCMA-28 (aa) Numeración de Chothia
515	SGSGST	CDR-H2 de BCMA-33 (aa) Numeración de Chothia
516	SSSGNT	CDR-H2 de BCMA-41 Numeración de Chothia
517	YSGSFDN	CDR-H3 de BCMA-52 (aa) - Numeración de Kabat, Chothia y AbM
518	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPTYGDDAFDIWGQGTMV TVSS	Cadena de VH de BCMA-24 (aa)
519	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLVTVSS	BCMA-25, -31, -44, -51 Cadena de VH (aa)
520	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCVASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDGLGITPYYFDYWGQGTLVT VSS	Cadena de VH de BCMA-27 (aa)
521	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIX YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPTYGDDAFDIWGQGTMV TVSS	Cadena de VH de BCMA-28 (aa)
522	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPTYGDDAFDIWGQGTMV TVSS	BCMA-29, -39 Cadena de VH (aa)
523	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFGDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLDPDDAFDIWGQGTMVTVS S	Cadena de VH de BCMA-30 (aa)
524	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGPTSFDIWGQGTMVTVSS	BCMA-32, -49 Cadena de VH (aa)
525	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISGSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREADSSADYWGQGTLVNVSS	Cadena de VH de BCMA-33 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
526	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGPSYYDPDAFDIWGQGTMV TVSS	Cadena de VH de BCMA-34 (aa)
527	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGGYDDYWGQGTLVTVSS	Cadena de VH de BCMA-35 (aa)
528	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGGYVDDWGQGTLVTVSS	Cadena de VH de BCMA-36, 38 (aa)
529	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGGYVDDYWGQGTLVTVSS	Cadena de VH de BCMA-37 (aa)
530	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGGYVDDYWGQGTLVTVSS	Cadena de VH de BCMA-41 (aa)
531	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLVTVSS	Cadena de VH de BCMA-42 (aa)
532	GYSFTSY	CDR-H1 de BCMA-52 (aa) - Numeración de Chothia
533	QVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGDSPSPGITPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPYSFDIWPQGTMVTVSS	Cadena de VH de BCMA-47 (aa)
534	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWGST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIYHCQQYLSLPWTFGQGTKVEIK	Cadena de VL de BCMA-24 (aa)
535	DIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTCRASQGISSYLAWYQQKPGNAPRLLIYSASTLQSGVP SRFRGTDYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYCQQSYTSRQTFGPGTRLDIK	Cadena de VL de BCMA-25 (aa)
536	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPNLVVYDDDDRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDPSRDEYVFGTGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-26 (aa)
537	DIVMTQSPLSLSVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLHWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIK	Cadena de VL de BCMA-28 (aa)
538	QPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVSWYQQHPGKAPELMIYEVSKRPSG VSNRFSGSKSGNTASFTISGLQAEDEADYYCCSYAGSSTSRDVFGXGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-29 (aa)
539	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQTIRSNLAWYQQKPGQAPKLLIYSASTRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYRRHXAPLTFGGGTKVEIK	Cadena de VL de BCMA-30 (aa)
540	DVVMTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSVLNSSNNKNYVAWYQQKPGQPPKLVISWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYTFGQGTKLDIK	Cadena de VL de BCMA-31 (aa)
541	QTVVTQEPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKGVHWYQQPPGQAPEVVIYDDSDRPSGVPD RFSGSNSGNTATLTVRGVEAGDEADYYCQVWDSSSDHWVFGGGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-32 (aa)
542	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASHRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPYTFGQGTKLDIR	Cadena de VL de BCMA-34 (aa)
543	NFMLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPMLVVYDDDDRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHYVFGTGTELDIK	Cadena de VL de BCMA-35 (aa)
544	QSVLTQEPSLTVSPGETVTITCGSSTGPVTSAHSPSWFQQKPGQAPTTLIYETTNRHSW TPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYYCLLSSGDARMVFGGGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-36 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
545	QIVLTQSPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTNGNSPYWFQQKPGQAPRTLIYDTTNRHSW TPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCSLSRAGCRVFFGGGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-37 (aa)
546	QAVLTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTNGNSPYWFQQKPGQAPRTLIYDTNNRHSW TPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYFCLLSYSDARLAFGGGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-38 (aa)
547	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYLLNWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVP SRFSGSGSGTDFALTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGGGTKLEIK	Cadena de VL de BCMA-39 (aa)
548	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVSKYNLVSWYQQHPGKAPKLIIYDVNKRPSG VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYGGSRSYVFGTGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-40 (aa)
549	QPVLTQPPSVSGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNSVDWFQEVPGTAPKLLIYANDQRPSGV PDRFSGTKSGTSASLAISGLQSDDEADYYCSSWDDALNGHVFGGGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-41 (aa)
550	DIQMTQSPSLVSASVGDRVTITCRASQSISNGLAWYQQKPGKAPKLLIFAASRLESGVP SRFSGSRSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQQYVDDALTFGGGTKVDIK	Cadena de VL de BCMA-42 (aa)
551	YPGDSD	CDR-H2 de BCMA-52 (aa) - Numeración de Chothia
552	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQNLLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSSPYTFGQGTKLEIK	Cadena de VL de BCMA-44 (aa)
553	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSSLAWYQQKPGGVPQLLIHDASSLESGVP SRFSGSGSGTEFTLTISGVQSEDSAIYHCQQLNGYPWTFGQGTKVDIK	Cadena de VL de BCMA-45 (aa)
554	QAVLTQEPSVSVAPGKTATITCGGNNIGSKSVHWYQRKPGQGPVVVIQYDTDRPSGIPE RFSGSKSGDTASLTISGVEAGDEADYYCQLWDSDSDDFAFSTGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-47 (aa)
555	QPVLTQEPSVSVAPGKTATITCGGNNIGSKSVHWYQAKPGQGPVVVIQYDTDRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHWVFGGGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-48 (aa)
556	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGDQIGRKSVHWYQQKPGQAPVLVMSYDSDRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAAYYCQVWDSSTGVYVFGGGTKLTVL	Cadena de VL de BCMA-49 (aa)
557	AIQLTQSPSTLSASVGDRVAITCRASQNIGDWLAWYQQKPGKAPKLLIFGASILESGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVAVYYCQKYDSAPFWTFGQGTKVEIK	Cadena de VL de BCMA-51 (aa)
558	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSGISGNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPYGDDAFDIWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWGSTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVSIYHCQQYIS LPWTFGQGTKVEIK	Secuencia de scFv de BCMA-24 (aa)
559	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTPYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTCPASQGISNYLAWYQQKPGNAP KLLIYSASTLQSGVPSRFSGTGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYCQQSYTSPQTFGPGTR LDIK	Secuencia de scFv de BCMA-25 (aa)
560	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPPSFDIWGQGTMVTVSS GGGSGGGGSGGGGSGGGGSAYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPM LVVYDDDDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDSRSDHYVFGTGT KLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-26 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
561	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCVASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKGGLGITYYYFDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQFVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSKTVNWFRQVPGTAPQL LIYSNDQRPSGVPDRFSGSKSGSSASLDISGLQSEDEAYYYCGSWDDSLNAWVFGGETK LTVL	Secuencia de scFv de BCMA-27 (aa)
562	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIK YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPYYGDDAFDIGGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLSVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYTYLDW YLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT PFWTFGQGTKVEIK	Secuencia de scFv de BCMA-28 (aa)
563	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPYYGDDAFDIWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVSWYQQ HPGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASFTISGLQAEDEADYYCCSYAGSST RDVFGXGTKLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-29 (aa)
564	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFGDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPDDAFDIWGQGTMVTVS SGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSVSPGEPATLSCRASQPIRSNLAWYQQKPGQA PKLLIYSASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFAVYYCQHYAPLTFGGGTKV EIK	Secuencia de scFv de BCMA-30 (aa)
565	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLVTVSS GGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATISCRSSQSVLNSSNNKNYVAWYKQ KPGQPPELVISWASTPESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPYT FGQGTKLDIK	Secuencia de scFv de BCMA-31 (aa)
566	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPPSFDIWGQGTMVTVSS GGGSGGGGSGGGGSQTVVTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKGVHWYQQRPGQAPE VVIYDDSDRPSGVPERFSGSNSGNTATLTVRGVEAGDEADYYCQVWDSGSDHWVFGGGT KLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-32 (aa)
567	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISGSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREADSSADYWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSQFVLTQPPSVSVAPGKTAMITCGGNNIGFKGVQWYQQKTGQAPVL VVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSASDHWVFGGGTK LTVL	Secuencia de scFv de BCMA-33 (aa)
568	TGQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLGPDYDFDAFDIWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGDRATLSCRASQSISNYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPYTF GQGTKLDIK	Secuencia de scFv de BCMA-34 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
569	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYDDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSNFMLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPML VVYDDDDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHYVFGTGTK LDIK	Secuencia de scFv de BCMA-35 (aa)
570	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDVAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYVDDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGPVTSAHFPSWFQKKPGQ APTTLIYETTNRHSWTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYYCLLSSGDARWVFGG GTKLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-36 (aa)
571	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYVDDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTNGHFPYWFQQKPGQ APRTLIYDTTNRHSWTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCSLSRAGDRVFFGG GTKLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-37 (aa)
572	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDVAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYVDDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTNGHFPYWFQQKPGQ APRTLIYDTNNRHSWTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYYCLLSYSDARLAFGG GTKLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-38 (aa)
573	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIG YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLSPPYGDGAFDIWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYELNWYQQKP GKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFALTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFG	Secuencia de scFv de BCMA-39 (aa)
	QGTKLEIK	
574	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYTEDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVSKYNLVSWYQQFPGK APKLIIYDVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQGDDEADYYCCSYGGSRSYVFGT GTKLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-40 (aa)
575	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGHTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGDYVDDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQFVLTQPPSVSGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNSVDWFQEVPGTA PKLLIYANDRRPSGVPDRFSGTKSGTSASLAITGLQSDDDADYYCESWDSALNGHVFGG GTKLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-41 (aa)
576	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMKSLKTEDTAVYYCAAWSAFTDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLVSASVGDRVTITCRASQGIGNGLAWYQQKPGKAP KLLLFAASRLESGVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQQYVEDALTFGGGTK VDIK	Secuencia de scFv de BCMA-42 (aa)
577	GYSFTSYWIG	CDR-H1 de BCMA-52 (aa) - Numeración AbM

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
578	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAFTDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQNLLYSSNNKNYLAWYQQ KPGQPPSLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSSPYT FGQGTKLEIK	Secuencia de scFv de BCMA-44 (aa)
579	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAFTDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSAIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRSLAWYQKPGGVP QLLIHDASSLRSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISGVQSEDSATYYCQQTNGYPWTFGQGTK VDIK	Secuencia de scFv de BCMA-45 (aa)
580	QVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPFSFDIWGQGTMVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPPSVSVAPGKTATITCGGNNIGSKSVHWYQRKPGQGFV VVIQYDTDRPSGIPERFSGSKSGDTATLTISGVEAGDEADYYCQVWDSGSDFAFGTGT KLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-47 (aa)
581	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPFSFDIWGQGTMVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQPPSVSVAPGKTATITCGGNNIGSKSVHWYQRKPGQGFV VVIQYDTDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEGDYYCQVWDSSSDHWVFGGGT KLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-48 (aa)
582	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVDGPFSFDIWGQGTMVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSLPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGDQIGRKSVHWYQQKPGQAPV LVMSYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAAYYCQVWDSSTGQYVVFGGG TKLTVL	Secuencia de scFv de BCMA-49 (aa)
583	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAFTDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSAIQLTQSPSTLSASVGDRVAITCRASQNIGDWLAWYQQKPGKAP KLLIFGASILESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVAVYYCQKYDGAPPWTFGQGT KVEIK	Secuencia de scFv de BCMA-51 (aa)
584	CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAATACCATATAC TACGCAGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAAAACTCACT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAAG TGGACGGTGACTACGTCGATGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGTGCTGAC TCAGCCACCCTCAGTGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGTTCTGGAA GCAGCTCCAACATCGGAAGTAACTCTGTAGACTGGTTCCAGGAGGTCCCAGGGACGGCC CCCAAACTCCTCATCTACGCTAATGATCGGCGGCCGTCGGGTGTCCCTGACCGCTTCTC TGGCACCAAGTCGGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGGGGGCTCCAGTCTGACGATG AGGCTGATTATTACTGTGAATCCTGGGACGATAGCCTGAACGGTCACGTGTTCGGCGGA GGGACCAAGCTGACCGTCCTA	Secuencia de scFv de BCMA-41 (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
585	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPA YAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS GGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQQKPG QPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGG GTKLEIK	scFv de VH-VL de BCMA-C1 (aa)
586	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVP DRFTGSGSGADFTLTISNVQSEDLAVYYCQQHYSTPFTFGGGTKLQITRGGGGSGGGGSG GGGSQIQLVQSGPDLKKPGETVRLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMAWINTYT GESYFADDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCARGETYYGYDGGFAYWGQ GTLVTVSA	scFv de VL-VH de BCMA-C2 (aa)
587	IIYPGDSDTR	CDR-H2 de BCMA-52 (aa) - Numeración AbM
588	gaagtgcagctggtgcagtctggcgccgaagtgaagaagcctggcgagagcctgaagat cagctgcaaaggcagcggctacagcttcaccagctactggatcggctgggtccgacaga tgcctggcaaaggccttgagtggatgggcatcatctaccccggcgacagcgacaccaga tacagccctagcttccagggccacgtgaccatcagcgccgacaagtccatcagcaccgc ctacctgcagtggtccagcctgaaggcctctgacaccgccatgtactactgcgccagat actctggcagcttcgacaattgggggccagggcaactggtcaccgtgtccagc	Cadena de VH de BCMA-52 (nt) (O/SSE)
589	SGTSSNIGSHSVN	CDR-L1 de BCMA-52 (aa) - Numeración de Kabat, Chothia y AbM
590	TNNQRPS	CDR-L2 de BCMA-52 (aa) - Numeración de Kabat, Chothia y AbM
591	AAWDGSLNGLV	CDR-L3 de BCMA-52 (aa) - Numeración de Kabat, Chothia y AbM
592	tcctatgagctgactcagccacctcagcgtctgggaccccgggcagagggtcaccat gtcttgttctggaagcagctccaacatcggaagtcactctgtaaactggtaccagcagc tcccaggaagggcccccaaactcctcatctatactaatcagcggccctcaggggtc cctgaccgattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcagtggcct ccagtctgaggatgaggctgattattactgtgcagcatgggatggcagcctgaatggtc tggtattcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt	Cadena de VL de BCMA-52 (nt)
593	DYYVY	CDR-H1 de BCMA-55 (aa) - Numeración de Kabat
594	WINPNSGGTNYAQKFQG	CDR-H2 de BCMA-55 (aa) - Numeración de Kabat
595	SQRDGYMDY	CDR-H3 de BCMA-55 (aa) - Numeración de Kabat, Chothia y AbM
596	GYTFIDY	CDR-H1 de BCMA-55 (aa) - Numeración de Chothia
597	NPNSGG	CDR-H2 de BCMA-55 (aa) - Numeración de Chothia
598	GYTFIDYYVY	CDR-H1 de BCMA-55 (aa) - Numeración AbM

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
599	WINPNSGGTN	CDR-H2 de BCMA-55 (aa) - Numeración AbM
600	agctatgagctgacacagcctccaagcgtgtctgtggcacacctggacagcgagtgacaat gagctgtagcggccaccagcagccaacatcggcagccacagcgtgaactggtatcagcagc tgcctggcacagccccaaactgctgatctacaccaacaaccagcggccctagcggagtg cccgatagattctctggcagcaagagcggcacaagcgccagcctggctatttctggact gcagagcgaggacgaggccgactattattgtgccgcctgggacggctctctgaacggcc ttgttttttggcggaggcaccaagctgacagtgctggga	Cadena de VL de BCMA-52 (nt) (O/SSE)
601	TGTSSDVG	CDR-L1 de BCMA-55 (aa) - Numeración de Kabat, Chothia y AbM
602	EDSKRPS	CDR-L2 de BCMA-55 (aa) - Numeración de Kabat, Chothia y AbM
603	SSNTRSSTLV	CDR-L3 de BCMA-55 (aa) - Numeración de Kabat, Chothia y AbM
604	GYSFTSYW	CDR-H1 de BCMA-52 (aa)
605	IYPGDSDT	CDR-H2 de BCMA-52 (aa)
606	ARYSGSFDN	CDR-H3 de BCMA-52 (aa)
607	SSNIGSHS	CDR-L1 de BCMA-52 (aa)
608	TNN	CDR-L2 de BCMA-52 (aa)
609	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTR YSPSFQGRVTISADRSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARYSGSFDNWGQGTLVTVSS	Cadena de VH de BCMA-52 (aa)
610	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVYWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDGSLNGLVFGGGTKLTVLG	Cadena de VL de BCMA-52 (aa)
611	GYTFIDYY	CDR-H1 de BCMA-55 (aa)
612	INPNSGGT	CDR-H2 de BCMA-55 (aa)
613	ARSQRDGYMDY	CDR-H3 de BCMA-55 (aa)
614	ISCTGTSSD	CDR-L1 de BCMA-55 (aa)
615	EDS	CDR-L2 de BCMA-55 (aa)
616	tcaattggtacgtgg	Sitio donante de corte y empalme previsto
617	EVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGYTFIDYYVYWMKQAPGQGLESMGWINPNSGGTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRDGYMDYWGQGTLVTVSS	Cadena de VH de BCMA-55 (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
618	DSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIYEDSKRPSGVSNRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLG	Cadena de VL de BCMA-55 (aa)
619	atggtgctgcagacccaggtgttcatcagcctgctgctgtggatctccggagccatacgg a	Secuencia señal de IgG-kappa humana (nt)
620	MVLQTQVFISLLLWISGAYG	Péptido señal IgG-kappa humana (aa)
621	gaatctaagtacggaccgccctgcccctcctgcccctgctcctcctgtggctggacctaag cgtgttcctgttcctcccaccaagcctaaagataccctgatgatttcccgcacacctgaag tgacttgcgtggtcgtggacgtgagccacgaggatcctgaagtgcagttcaactggtac gtggacggcgtggaagtccacaatgctaagactaaacccccgagaggaacagtttcagtc aacttacccgggtcgtgagcgtcctgaccgtcctgcatcaggattggctgaacgggaagg agtataagtgcaaagtgtctaataaagggctgcctagctccatcgagaaaacaattagt aagggcaaagggcagcctcgagaaccacaggtgtatacccctgcccccctagccgaggaga aatgaccaagaaccaggtgtccctgacatgtctggtcaaaggcttctatcccagtgacca tcgccgtggagtgggaatcaaatgggcagccggagaacaattacaagaccacaccaccc gtgctggactctgatggaagttttttctgtattccaggctgaccgtggataaatctcgg ctggcaggaggggcaacgtgttctcttgcagtgtcatgcacgaagccctgcacaatcatt atcacagaaagtcactgagcctgtccctgggcaaa	Bisagra de IgG4/IgG2-C_H2 de IgG2/IgG4-espaciador de C_H3 de IgG4 (nt)
622	gagtctaaatacggaccgccttgtcctccttgtcccgctcctcctgttggcaggaccttc cgtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagccggacccctgaag tgacctgcgtggtggtggatgtgtcccaagaggatccccgaggttcaattggtac gtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagccacgggaggagcagttccagag cacctacagagtggtgtccgtgctgacagtgctgcaccaggattggctgaacggcaaag agtacaagtgcaaggtgtccaacaaaggcctgcctagcagcatcgagaaaaccatctcc aaggccaagggccagccacgagaccccaggtttacaccactgcctcccaagccaagagga aatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctggtcaaaggcttctaccccagcgata tcgccgtggaatgggagagcaatgggcagcctgagaacaactacaagaccacacctcct gtgctggacagcgacggcagcttctttctctatagtaagctcaccgtggacaagtccagg atggcaggaggggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccact acacccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaag	Bisagra de IgG4 optimizada por SSE/IgG2-C_H2 de IgG2/IgG4-espaciador de C_H3 de IgG4 (nt)
623	atgttttgggtgctggtcgtggtcggagggtgctggcctgttacagcctgctggtgac agtcgcttttatcatctttgtgggtg	Dominio transmembrana de CD28 (nt)
624	MFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	Dominio transmembrana de CD28 (aa)
625	aagcggggcagaaagaaactgctgtatatttttcaaacagcccttttatgagaccagtgca gactacccaggaggaagacggctgcagctgtaggtttccgaggaagaggaaggaggct gcgagctg	Secuencia de coseñalización intracelular derivada de 4-1BB (nt)
626	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	Secuencia de coseñalización intracelular derivada de 4-1BB (aa)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
627	agagtgaagttttcaggtccgccgacgctccagcctaccagcagggccagaaccagct gtacaacgagctgaacctgggcagaagggaagagtacgacgtcctggataagcggagag gccgggaccctgagatggcggcaagcctccggcggaagaacccccaggaaggcctgtat aacgaactgcagaaagacaagatggccgaggcctacagcgagatcggcatgaagggcga gcggaggcgggcacaggacacgatggactgtaccagggcctgtccaccgccaccaagg atacctacgacgccctgcacatgcaggccctgccccctagg	Dominio de señalización intracelular derivado de CD3-zeta (nt)
628	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY	Dominio de señalización intracelular derivado de CD3-zeta (aa)
	NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
629	attgaagttatgtatcctcctccttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattat ccatgtgaaagggaaacaccctttgtccaagtccccctatttccggacctttctaagccc	Espaciador del ectodominio de CD28 (nt)
630	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKP	Espaciador del ectodominio de CD28 (aa)
631	EGRGSLLTCGDVEENPGP	Péptido T2A (aa)
632	atgcgtctcctgctgctgcgcaagcgtggaaacagcctgacgccctgctgcccggcaccgacgacgtggtgaacagcgacgagatgttcgtgcgcctggccgagcgcgagatg agcgagaacctggacagcgtgctgcagcgcctggccgagcagagcggcgccggcgagggcagcctgctgacctgcggcgacgtggaggagaaccccggccccatgctg ctgctggtgaccagcctgctgctgtgcgagctgccccaccccgccttcctgctgatccccgacatccagatgaccaacccccagctggaaacccagagcatcaccctgggcgag agcctgagcctgagccacatcagcagctgcaagaagctgcacagcctgttcagcagcgagttcctgatcctgcagctgaagagcgagctgggcaagatggtgaagctgttcgag atcgacctgctgccccccagcgtgcgcttcgtgaacgagcacagcagcctgctgggcggcctgcccaaggacatgatcgagttcatcgtgctgagcgccagccccaagatg aaggacgagatcgccctgcacgccaccgtgggcgccggcgacaacaagggcatcgtgaacgtgcacaagaacgtgaaggagctgatcatcggcgtgaacgacctgagcgcc gagagcttcaagttcaccaagaacatcttcttcctgaacgtgaccatcaacgacggccccgtgctgaacaagatgcagctgaaggtgtacgagatcgcctacctgctgctg agcgacagcctgttcgtgcgcgacggcttcggcaacctgatgctgaccttcaccgtgaagagcaacctgaagccctgcggccagtgctacctgcgcgtgcccttcagcgtg gacgagcagttcgccctgaccgtgtacgacgagcacgagaacgacaacgccgacaacatcgccatcaccgagcgcggcgacaccatcatcggctacaagcacttcttcgac atcatgcacgtgatgcacttcgccgagagcctgagcctggaggacatcgtgcccgtgtccctgcccctgaacaagaacgtgaccagcaccgtgaacatccagaagcccgag gacaagcgcaacatggtcctgttcctcctgcagctcgtcagcctgctgaacatcacatcctttgggcatcacgctccagaggagaatgaaggccgtgtccaatgccatt ctgcagagcgccagcagaatcatggctgacatgcctgtgcagatgcagaagggcgccctgcccatcctgccctttggcgtcgtcgaggtgatgcctgtgaagctgtacatc ctgcagggcgtgaacaacagcatcttcctgtccgtgcgcgacggcgaccagacactgctgctgaagaacaagatcagcaagtgcctgaacatggacagcaagaacaacctg aagctgaacaaggagatcgagctgctgaagaagcagctgatcctgcgcgacaacagcctgcccgagaacttcatcgagctgtacgtgaccaagaagatcgacatgctgtac gagggctacgccggcagcgtgagccgctggttcctgaagatcgccgacgacctgaacgccatcaacaagcagctgcccgtgtacgagctggccaacctgaacgccagccag gccttcgacatcagcgtgatcgtgaacgacaagggcgagttcatccacaagcgcagcggcagcaccgtgagcctgctgcccggcgccaacgagatcgtgctgaccagctac gtgacccccttcagcctgaacaacgtgagcgtgagctgcgagcacaagaagctgatcgagcccgtgagcatctacgacctgggcaagcagctgtgcgtgctgccccccacc gagggcatcttcagcgacgccctggccgtggtggacgtgctgtgcaacctgagctgccagaacgtgagctacgacgccttcaaggtgagcagcctgaactacgtgatcgtg atcccccagaagcacagcaccctgtacaacggcgtgttcgaggtgcagcacaagaagagcaagatcaacgagaccatcctgggcctgaacaagctgtgcgagaagggcgag atcgccctgcccgacatcagcggcctgaacagcagcgtggtgtgcgtgcccctgcccgtgcccgagcccgtgaagctgggcaccgtgaagtacctgcccctgcccgacgac gtgcacatcgagcagcccgagatcctggagagcgacaagcccgtgcagcccgacgccgtgctgcagacctacgtgctgcccgtgggcagcgtgctgcccatgctgctgggc ctgctgatgacctgcgccgtggaactgaagaacctgaagaagaagggcctgatgtga	Secuencia de EGFR truncado (tEGFR) (nt)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
633	atgctgctcctcgtgacaagcctgctcctgtgtgaactccctcatccagcttttctgct cattcctcggaaagtgtgcaacggcatcggcatcggagagttcaaggacagcctgagca tcaatgccaccaacatcaagcacttcaagaattgcaccagcatcagcggcgacctgcac attctgcctgtggcctttagaggcgacagcttcacccacacacctccactggatccctca agagctggatatcctgaaaaccgtgaaagagattaccggattcctcctgatccaagcct ggccagagaacagaacctgatctgcacgcctttcgagaacctcgagatcatcagaggccgg accaaacagccacggccagtttagcctggctgtggtgtcactgaacatccaccagtctggg cctgagaagcctgaaagaaatctccgacggcgacgtgatcatctccggaaacaagaacc tgtgctacgccaacaccatcaactggaagaagctgttcggcacctccggccagaaaaca aagatcatctctaaccggggcgagaacagctgcaaggccaccggacaagtttgtcacgc cctgtgtagccctgaaggctgttgcggacccaaactagagactgtgtgtcctgccgga atgtgtccgggccagagaatgtgtggataagtgcaacctgctggaaggcgagccccgc gagtttgtggaaaacagcgagtgcatccagtgtcaccccgagtgtctgccccagcgccat gaacattacatgcaccggcagaggccccgacaactgtatttcagtgcggccactacatcg acggccctcactgcgtgaaaacatgtccagctggcgtgatggagagaacaacaccctc gtctggaagtatgccgacgccggacatgtgtgccacctgtgtccacccaattgcacccta cggctgtaccggacctggcctggaaggatgccctacaaaacggccctaagatcccagca ttgccaccggaatggttgagccctgctgttctgtggtggtggccctcggaatcggc ctgttcatgtga	Secuencia de EGFR truncado (tEGFR) (nt) (O/SSE)
634	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISGDLH ILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGR TKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKT KIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPR EFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTL VWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIG LFM	Secuencia de EGFR truncado (tEGFR) (aa)
635	cgatctgcgatcgctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccc gagaagttggggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggt aaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaac cgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttgcgcaacgggtttgccgccaga acacaggtgaagcttcgagggggctcgcatctcttccattccagcggcccgcgcgcctaactg aggccgccatccacgccggttgagtcgcgttctgccgcctcccgcctgtggtgcctcct gaactgcgtccgccgtttaggtaagtttaaagctcaggtcgagaccgggcctttgtccc gcgttcctttggagcctacctagactcagccggctctccacgctttgcctgaccctgct tgctcaactctacgtctttgtttcgttttctgttctgcgccgttacagatccaagctgt gaccggcgcctac	Promotor EF1alfa con potenciador HTLV1
636	aatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattcttaactatgttgc tccttttacgctatgtggatacgctgctttaatgccttttgtatcatgctattgcttccc gtatggctttcattttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggag	Elemento regulador postranscripcional (WPRE) del virus de la hepatitis de la marmota (WHP)
	ttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccc cactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttccccc tccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgctgctggacaggggct cggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcgggggaaatcatcgtcctttccttg gctgctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttc ggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctgctgccggctctgcggcctctt ccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggccgcctccccgca	

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
637	QNEYF	Epítopo 1 de unión a BCMA de BCMA-52-scFV-mFc
638	CIPCQL	Epítopo 2 de unión a BCMA de BCMA-52-scFV-mFc
639	CQRYC	Epítopo 3 de unión a BCMA de BCMA-52-scFV-mFc
640	MLMAG	Epítopo 1 de unión a BCMA de BCMA-55-scFV-mFc
641	YFDSLL	Epítopo 2 de unión a BCMA de BCMA-55-scFV-mFc
642	QLRCSSNTPPL	Epítopo 3 de unión a BCMA de BCMA-55-scFV-mFc
643	gaagtgcagctggtgcagtctgggggctgaggtgaagaagcctgggggcctcactgaagct cctctgcaaggcttctggatacaccttcaccggactactatgtatactggatgcgacagg cccctggacaagggcttgagtccatgggatggatcaaccctaacagtggtggcacaaac catgcacagaagtttcagggcaggtcaccatgaccagggacacgtccatcagcacagc ctacatggagctgagcaggctgagatctgacgacacggccatgtattactgtgcgcgct ccaagcgtgacggttacatggattactggggtcaaggtaccctggtgaccgtctcctca	Cadena de VH de BCMA-55 (nt)
644	gaagtgcagctggtgcagtctgggcgccgaggtgaagaaacctgggcgcctctctgaagct gagctgcaaggccagcgggctacaccttcaccggactactacgtgtactggatgcgccagg cccctggacagggactcgaatctatgggctggatcaacccccaatagcggcggcaccaat tacgcccagaaatttcagggcagagtgaccatgaccagagacaccagcatcagcacagc ctacatggaactgagcgcggctgagatccgacgacaccgccatgtactactgcgccagat ctcagcgcgacggctacatggattattgggggcagggaaccctggtcaccgtgtctagc	Cadena de VH de BCMA-55 (nt) (O/SSE)
645	gaatctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcgccat ctcctgcactggaacccagragtgacgttggtggtatcaacagcaccccaggcaaagccc ccaaactcatgatttatgaggacagtaagcggccctcaggggttctctaatcgcttcttct ggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggacga ggctgattattactgcagctcatatacaagaagcagcacttcggtgttcggcggagggca ccaagctgaccgtcct	Cadena de VL de BCMA-55 (nt)
646	cagtctgccctgactcagcctgccagcgttagtgctagtcccggacagtctatcgccat cagctgtactggcaccagcatcctgacgttggctggtatcagcagcaccctggcaaggccc ctaagctgatgatctacgaggacagcaagaggccctcaggggtgtctcaatagattctctgc ggcagcaagagcggcaacacggccagcctgaccatctctgggctgcaggccgaggacga ggccgattactactgcagcagcaacaccccggtccagcacactggttttggcggaggca ccaagctgacagtgctg	Cadena de VL de BCMA-55 (nt) (O/SSE)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
647	[illegible]	scFv de BCMA-52
648	[illegible]	scFv de BCMA-55
649	[illegible]	Bisagra de IgG4/IgG2-C_H2 de IgG2/IgG4-espaciador de C_H3 de IgG4 (aa)
650	[illegible]	Promotor EF1 alfa modificado

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
651	ttatttagtctccagaaaaaggggggaatgaaagaccccacctgtaggtttggcaagc taggatcaaggttaggaacagagagacagcagaatatgggccaaacaggatatctgtgg taagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagttggaacagcagaatatgggcca aacaggatatctgtggtaagcagttcctgccccggctcaggccaagaacagatggtcc ccagatgcggtccccgccatcagcagtttctagagaaccatcagatgtttccagggtgcc ccaaggacctgaaatgaccctgtgccttatttgaactaaccaatcagttcgcttctcgc ttctgttcgcgcgcttctgctccccgagctcaataaaagagcccca	Promotor MND
652	agagtgaagttcagcagatccgccgcgacgccccagcctatcagcagggccaaaaccaagct gtacaacgagctgaacctgggcagaagagaagagtacgacgtgctggataagcggagag gcagagatcctgaaatgggcggcaagccccagacggaagaatcctcaagagggtctgtat aatgagctgcagaaagacaagatggccgaggcctacagcgagatcggaatgaagggcga gcgcagaagaggcaagggacacgatggaccgtaccagggcctgagcaccgccaccaagg atacctatgacgcactgcacatgcaggccctgccacctaga	Dominio de señalización intracelular derivado de CD3-zeta (nt)
653	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP	Péptido T2A (aa)
654	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	Péptido T2A (aa)
655	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	Péptido P2A (aa)
656	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	Péptido P2A (aa)
657	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	Péptido E2A (aa)
658	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP	Péptido E2A (aa)
659	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	Péptido F2A (aa)
660	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	Péptido F2A (aa)
661	agtctaaatacggac	Sitio donante de corte y empalme optimizado
662	tcaactggtatgtgg	Sitio donante de corte y empalme optimizado
663	accatctccaaggcc	Sitio donante de corte y empalme optimizado
664	gccccaggtttacac	Sitio donante de corte y empalme optimizado
665	tcagcagatccgccg	Sitio donante de corte y empalme optimizado
666	ctcctgtgtgaactc	Sitio donante de corte y empalme optimizado
667	tcggaaagtgtgcaa	Sitio donante de corte y empalme optimizado
668	cagcacggccagttt	Sitio donante de corte y empalme optimizado
669	aaccggggcgagaac	Sitio donante de corte y empalme optimizado

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
670	ctggaaggcgagccc	Sitio donante de corte y empalme optimizado
671	tgttcatgtgagcgg	Sitio donante de corte y empalme optimizado (últimos 4 nt fuera de la región codificante)
672	cagtttcttcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado
673	gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgc	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado
674	cggagtgctggcctgttacagcctgctggttaccgtggcct	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado
675	gctgagagtgaagttcagcagatccgccgacgctccagcct	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado
676	acacctccactggatccccaagagctggatatcctgaaaac	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado
677	accggattcctcctgatccaagcctggccagagaacagaac	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado
678	acggccagtttagcctggctgtggtgtctctgaacatcacc	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado
679	aggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccc cgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccctaccacgcgacttcgcagcctatc gctcc	CD28 endo (nt)
680	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 endo (aa)
681	aagcggggcagaaagaagctgctctacatcttcaagcagcccttcatgcggccgtgca gaccacaagaggaagatggctgctcctgcagatttccccgaggaagaagaaggcggct gcgagctg	Secuencia de coseñalización intracelular derivada de 4-1BB (nt)
682	atggtgctgcagacccaggtgttcatcagcctgctgctgtggatctctggcgcctacgg c	Secuencia señal de IgG-kappa humana (nt)
683	atggtgctgcagacccaggtgttcatcagcctgctgctgtggatctctggcgcctatgg a	Secuencia señal de IgG-kappa humana (nt)
684	atggtgctgcagacacaggtgttcatctcctgctgctgtggatctctggagcatacgg a	Secuencia señal de IgG-kappa humana (nt)
685	atggtgctgcagacacaggtgttcatcagcctgctgctgtggatctccggagcatacgg a	Secuencia señal de IgG-kappa humana (nt)
686	ctcgagggcggcggagaggcagaggaagtcttctaacatgcggtgacgtggaggagaa tcccggccctagg	Péptido T2A (nt)
687	cttgaaggtggtggcgaaggcagaggcagcctgcttacatgcggagatgtggaaggaa cccctggacctaga	Péptido T2A (nt)
688	atgttctgggtgctcgtggtcgttggcggagtgctggcctgttacagcctgctggttac cgtggccttcatcatctttgggtc	Dominio transmembrana de CD28 (nt)
689	cgtctaggtaagttt	Sitio donante de corte y empalme previsto

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
690	gaccaaggtgaccgt	Sitio donante de corte y empalme previsto
691	tgcactggtaccagc	Sitio donante de corte y empalme previsto
692	taaactggtaccagc	Sitio donante de corte y empalme previsto
693	atctcctgtaagggt	Sitio donante de corte y empalme previsto
694	ggtcaaggtactctg	Sitio donante de corte y empalme previsto
695	gaggacagtaagcgg	Sitio donante de corte y empalme previsto
696	ggtcaaggtactctg	Sitio donante de corte y empalme previsto
697	tgcctccgtgtctgc	Sitio donante de corte y empalme previsto
698	caccaaggtgaccgt	Sitio donante de corte y empalme previsto
699	tgaactggtatcagc	Sitio donante de corte y empalme previsto
700	atctcttgaaatggt	Sitio donante de corte y empalme previsto
701	ggccagggcacactg	Sitio donante de corte y empalme previsto
702	gaggacagcaagagg	Sitio donante de corte y empalme previsto
703	ggccagggaaccctg	Sitio donante de corte y empalme previsto
704	tgccagcgttagtgc	Sitio donante de corte y empalme previsto
705	aatctaagtacggac	Sitio donante de corte y empalme previsto
706	tcaactggtacgtgg	Sitio donante de corte y empalme previsto
707	acaattagtaaggca	Sitio donante de corte y empalme previsto
708	accacaggtgtatac	Sitio donante de corte y empalme previsto
709	tttccaggtccgccg	Sitio donante de corte y empalme previsto
710	ctgctctgtgagtta	Sitio donante de corte y empalme previsto
711	acgcaaagtgtgtaa	Sitio donante de corte y empalme previsto
712	caacatggtcagttt	Sitio donante de corte y empalme previsto
713	aacagaggtgaaaac	Sitio donante de corte y empalme previsto

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
714	ctggagggtgagcca	Sitio donante de corte y empalme previsto
715	caggtgcagctgttgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacaccttcaccagctactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttgagtggatgggaataatcaacccttccggtggtagcacaagctacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtccacgagcacagtctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtattactgtgcgagagatcgtcgtgtagtagctgctatgctttcgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttcaggtggaggcggttcaggcggaggtggctctggcggtggcggatcggacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagagcattagcagctatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagctcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagtctgcaacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacccctcactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgttag	scFv de BCMA-23 (nt)
716	caggtgcagctgttgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacaccttcaccagctactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttgagtggatgggaataatcaacccttccggtggtagcacaagctacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtccacgagcacagtctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtattactgtgcgagagatcgtcgtgtagtagctgctatgctttcgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttcaggtggaggcggttcaggcggaggtggctctggcggtggcggatcggacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagagcattagcagctatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagctcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagtctgcaacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacccctcactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgttag	scFV de BCMA-25 (nt)
717	gaggtgcagctgttgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcagtgaaggtctcctgcaaggcttctggatacaccttcaccagctactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttgagtggatgggaataatcaacccttccggtggtagcacaagctacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtccacgagcacagtctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtattactgtgcgagagatcgtcgtgtagtagctgctatgctttcgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttcaggtggaggcggttcaggcggaggtggctctggcggtggcggatcggacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagagcattagcagctatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagctcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagtctgcaacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacccctcactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgttag	scFV de BCMA-25 (nt) (O/SSE)

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
718	gaggtgcagctggtggagtccggaggaggccctggtgaagccaggaggctctctgaggct gagctgcgcagcctccggattcaccttttctgactactatatgagctggatccaggcagg caccaggcaagggcctggagtgggtgtcttacatcagctcctctggcagcacaatctac tatgccgactccgtgaagggcaggttcaccatctctcgcgataacgccaagaatagcct gtatctgcagatgaactccctgcgggccgaggatacagccgtgtactattgcgccaagg tggacggccccctttctttgatatctgggggccaggcacaatggtgaccgtgagctcc ggaggaggaggatccggcggaggaggctctggcggcggcggctctagctatgtgctgac ccagccaccatccgtgtctgtggcacctggacagacagcaaggatcacctgtggagcaa acaatatcggcagcaagtccgtgcactggtaccagcagaagcctggccaggcccccaatg ctggtggtgtatgacgatgacgatcggccccagcggcatccctgagagattttctggcag caactccggcaatacccgccacactgaccatcctctggagtggaggccaggcgacgaggcag attacttctgtcaactgtgggaccggagcagagatcactacgtgttcggcacaggcacc aagctgaccgtgctg	scFV de BCMA-26 (nt)
719	gaggtgcagctggtggagtccggaggaggccctggtgaagccaggaggctctctgaggct gagctgcgcagcctccggattcaccttttctgactactatatgagctggatccaggcagg caccaggcaagggcctggagtgggtgtcttacatcagctcctctggcagcacaatctac tatgccgactccgtgaagggcaggttcaccatctctcgcgataacgccaagaatagcct gtatctgcagatgaactccctgcgggccgaggatacagccgtgtactattgcgccaagg tggacggccccctttctttgatatctgggggccaggcacaatggtgaccgtgagctcc ggaggaggaggatccggcggaggaggctctggcggcggcggctctagctatgtgctgac ccagccaccatccgtgtctgtggcacctggacagacagcaaggatcacctgtggagcaa acaatatcggcagcaagtccgtgcactggtaccagcagaagcctggccaggcccccaatg ctggtggtgtatgacgatgacgatcggccccagcggcatccctgagagattttctggcag caactccggcaatacccgccacactgaccatcctctggagtggaggccaggcgacgaggcag attacttctgtcaactgtgggaccggagcagagatcactacgtgttcggcacaggcacc aagctgaccgtgctg	scFV de BCMA-26 (nt) (O/SSE)
720	tcttcatgtgagcgg	Sitio donante de corte y empalme previsto de marcador truncado
721	tggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatat	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de promotor
722	tgaactgcgtccgccgtctaggtaagtttaaagctcaggtc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de promotor
723	ttctgttctgcgccgttacagatccaagctgtgaccggcgc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de promotor
724	ctactacatgagctggatccgccaggctccagggaaggggc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-23
725	ggctgattattattgtagctcatatggaggtagtaggtctt	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-23
726	ctatgccatgtcctggttcaggcaggcaccaggcaagggcc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-25

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
727	gtccgcctctgtgggcgatagggtgaccgtgacatgtcgcg	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-25
728	gtgggctttatccgctctaaggcctacggcggcaccacaga	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-25
729	gtgacatgtcgcgcctcccagggcatctctaactacctggc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-25
730	tacagcgcctccaccctgcagagcggagtgccctcccggtt	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-25
731	ctggccatcagtggcctccagtctgaggatgaggctgatta	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-52
732	agatacagcccgtccttccaaggccacgtcaccatctcagc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-52
733	cgaggctgattattactgcagctcaaatacaagaagcagca	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-55
734	gccctcagggtttctaatcgcttctctggctccaagtctg	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-55
735	ctactatatgtcctggatcagacaggcacctggcaagggcc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-23 (O/SSE)
736	ggcagattactattgttctagctacggcggcagcagatcct	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-23 (O/SSE)
737	ctatgccatgtcctggttcaagcaggcaccaggcaagggcc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-25 (O/SSE)
738	ctggctatttctggactgcagagcgaggacgaggccgacta	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-52 (O/SSE)
739	agatacagccctagcttttcagggccacgtgaccatcagcgc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-52 (O/SSE)
740	cgaggccgattactactgcagcagcaacacccggtccagca	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-55 (O/SSE)
741	gcccagcggcgtgtccaatagattcagcggcagcaagagcg	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de BCMA-55 (O/SSE)
742	aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de espaciador
743	gggcaacgtgttctcttgcagtgtcatgcacgaagccctgc	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de espaciador

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
744	aggggtgctggcctgttacagcctgctggtgacagtcgctt	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de CD28TM
745	gctgagagtcaagttttccaggtccgccgacgctccagcct	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de 4-1BB/CD3 zeta
746	actcctcctctggatccacaggaactggatattctgaaaac	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de marcador truncado
747	acagggttttgctgattcaggcttggcctgaaaacaggac	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de marcador truncado
748	atggtcagttttctcttgcagtcgtcagccgaacataaca	Sitio aceptor de corte y empalme previsto de marcador truncado
749	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Fc de IgG2 humano (Uniprot P01859)
750	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	Fc de IgG4 humano (Uniprot P01861)
751	gaggtgcagctggtggagtctgggaggaggcctggtgaagccaggaggctccctgagact gtcttgcgcagccagcggcttcaccttcagcgactactatatgtcctggatccagacagg ctcctggcaaagggcttggagtgggtgagctacatcagctcctctggccccacaatctac tatgccgactccgtgaagggccggtttaccatcagcagagataacgccaagaattccct gtatctgcagatgaacagcctgagggccgaggacacagccgtgtactattgcgccaagg tggacggcgattacaccgaggattattggggccagggcacactggtgaccgtgagctcc	CAR anti-BMCA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
	agcggcggtgtcgtcgtc

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
752	gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtacagcctggggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcacctttagcagctatgccatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtctcagctattagtggtagtggtggtagcacatactacgcagactccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtatattactgtgcgaaagatcgtgggtatagcagcagctggtacgacgcctttgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttcaggtgagtccgggcagcggtgagggtccacgtacgaagcgacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagagcattagcagctatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagctcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagtctgcaacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacccctcgactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgttag	CAR anti-BMCA
753	gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtacagcctggggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcacctttagcagctatgccatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtctcagctattagtggtagtggtggtagcacatactacgcagactccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtatattactgtgcgaaagatcgtgggtatagcagcagctggtacgacgcctttgatatctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttcaggtgagtccgggcagcggtgagggtccacgtacgaagcgacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagagcattagcagctatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagctcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagtctgcaacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacccctcgactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgttag	CAR anti-BMCA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
	gtatcgcagcagcgaatcccgcgcgaaggcgaaaaggcagcgcgtgtactattgcgcaagg tggacggaaccgcctcgtgtatgcgatgcactgttccgacgatgtgacctgacgtcgagacaa ggcgtgaccgcgcacgtccgaggacaccgcgtcgtgcagccgattgtgcagaacgcgcatt gcgcgccatcgtcctcgcgccagcgctggctgtcgtcgaccatctgatcgagtccgacacc acgacgatcgacgacgtcgtcgacagcgagctgaaggcgctgtccgacgtcaccgacgacc actgcgtccgcgtcgcgaagcgcgcgcacgacgcgctggtcgtgctgccgcgctacgagccg cagatcgtcgagaacgtcgacgcgaacttcgcgtggggcatcaagaccgacgtcgacgcgaa gcgcgaccgcgtcgtcgacgacgagaacgagatcgtcggctacgtcgcgaagctgaaggcgc agcgtgaccgtgctgtccgtcgtcgtcgacgacgcgctgaccctgtgcgtcgtcagcgtcgc tgtacgtcgtcaacctgctgctgtccctgctgtacgtcgcgtccgacgtcgtcgacgtgcgc gcagcgccctgaagtcgatcgtcgacgagggcatcgacctgatgaccgagtccgtcgacgag cagtccgtcgtgtacgtcgtcaagcgcgcgaacgccgacgtcgtcgacgagctgaccgagtt ggcgcacgtcgtcgacgtcgtcgtcgacgagaacgagatcgtcggcgtcgtcagcctgcgc gacgtcctgcgcgcgctgctgcgcgagcaggtcgagctgcgcaacgagtccgtcgagtcgg gagcagcgcgcgctgctgcagcgcgtcgtcgacgacaacgcgtccctgagccagctgtgcgt tctacgtcgtcgtcgatgccgtcgtcgagaatggcgacgagctgagcctgcgcgagtccgtc aagaccagcgtcgtcgtcgacgagaacgagatcgtcggctacgtcagcgcgcgcgacctgc cgtggatcaacgaggtcgacgagaacgtcaagaccgtcgtcgtcgacgacgtcgtcgacgtg cctgtcgacgccgtcgtcgagaacggcgacgagctgagcctgcgcgagtccgtcaagtccg gtgcgtcgtgtcgtcgagctgcgcgtcgtcgacgtcgtcgacgtgtccgtcgtcgtcgcc catcatcttcgtcgtcgacgtcgtcgagaacggcgacgagctgagcctgcgcgagtccgtc tcatcgacgtcgtcgacgagaacgagatcgtcggctacgtcagcgcgcgcgacctgccgtg gaagaagcgcgtgtgcgagctgaagctgaacgtcgacgacgtcgtcgacgagctgaccgcc ctatcgacgtcgtcgacgagaacgagctgaagctgtccgacgtcaccgacgacgtcgtcgac acgacgatcgacgacgtcgtcgacgagaacgagatcgtcggctacgtcagcgcgcgcgacct agcgtcgtcgtcgacgtcgtcgacgagaacgagatcctgaaatgcgccgacgtgccgagcct cagcgacgtcgtgtatgagcgcgacgtcgacgacgtcgacgtgaactgcacctgcgtcgtc aggcgcgagcgcgtcgtcgacgtcgtcgacgagaacgagatcgtcggctacgtcagcgcgcg cctcga	

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
754	atgctactgctcgtcacaagccttctcctcgtcggcctcctcttcagatcccgctcgcaggtcaacttaaggagtcaggacctggcctggtggcgccctcacagagcctgtccgtcacatgcactgtctcaggggtctcattacccgctatggtgtaagctggattcgccagcctccacgaaagggtctggagtggctgggagtaatatggggtgacgggagcacaaactataattcagctctcaaatccagactgaccatcagcaaggacaactccaagagccaagttttcttaaaaatgaacagtctgcaaactgatgacacagccatttactactgtgccaaacattattactacggtggtagctatgctatggactactggggccaaggaacctcagtcaccgtctcctcaggtggaggcggttcaggcggaggtggctctggcggtggcggatcggacattgtgctgacccaatctccagcttctttggctgtgtctctagggcagagggccaccatctcatacagagccagtgaaagtgttgatagttatggcaatagttttatgcactggtaccagcagaaaccaggacagccacccaaactcctcatctatcttgcatccaacctagaatctggggtccctgccaggttcagtggcagtgggtctaggacagacttcaccctcaccattgatcctgtggaggctgatgatgctgcaacctattactgtcagcaaagtaatgaggatccgtacacgttcggaggggggaccaagctggaaataaaacgggctgatgctgcaccaactgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgtgcttcttgaacaacttctaccccaaagacatcaatgtcaagtggaagattgatggcagtgaacgacaaaatggcgtcctgaacagttggactgatcaggacagcaaagacagcacctacagcatgagcagcaccctcacgttgaccaaggacgagtatgaacgacataacagctatacctgtgaggccactcacaagacatcaacttcacccattgtcaagagcttcaacaggaatgagtgt	CAR anti-BMCA
755	caftctgcctcacagcctgcaagcctcagtctagtctgcggacagctctatcgccat tagttgtacagtactgcgctttgcgttgatttgtgtgtgcaacctgtgcaaagtcc	CAR anti-BMCA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
	ctaaaccctaatgaatcatagtagtaccaaa

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
756	caqtcgccctgaacagcgcgcgcgaggattcagtgaatcgcgggacagtccatcgcgcct cagcgtgcgccgcgacgagctcgccgtcaccgattccgaactgcgcgaccgcgcgcaggaggccc ctgagctgatgatccgcgacgaggacgccaagcgcgcgcagcagatgtccaatatgctccagc ggcgcgcaggcgcgcgccgcgcagctgaaatttagcgcgtcgtgcagtgccgaggatgcgca ggccgatactacctgcgcgtgaccgcgcgcgcgaaggatctgcgcgacctgggcgtgacgcga ggcggcgatccctgcgatgaagtgcgcgatctgcgcgcgcagctgcacgaatttaaggatcga actacgtgctgttcacggaccagctgcaggcgctgcgcgacctgaacgaccagcgcgcgctgat aacccatacgtgccgccaatatcaggccgaggatttccagggccagcagatgtgcaccgcgc cagcgatcaccgcgcaccgcgcgatcaccgcgcgcgatcgcgcgcgtgcgcgcgtcgcgcg ccgcatgcatcagcgcgcgcgcacgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcg gtgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcg cgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgc tgatgatccagcgcgaccgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgc ccgcgcgcgcagtccactgatgacgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgc gcccgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgc	CAR anti-BMCA
757	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDMGYYGMDVWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSAIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	CAR anti-BMCA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
758	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARDPAYGSGSYYNYMDVWGQGTLVTVS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPK RLLIYKASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNSYSFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	CAR anti-BMCA
759	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPSTTWGQGTMVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LVYGGSSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	CAR anti-BMCA
760	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPERF SGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHLVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPLRVEGAFDIWGQGTMVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	CAR anti-BMCA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
761	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIYEDSKRPSGVSNRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSG GGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGYTFIDYYVYWMRQAPGQGLEWMGWI NPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRDGYNDYWGQ GTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK MFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR	CAR anti-BMCA
762	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIYEDSKRPSGVSNRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSG GGGSLENAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGYTFIDYYVYWMRQAPGQGLEWMGWI NPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRDGYNDYWGQ GTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK MFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYA PPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CAR anti-BMCA
763	cttttcgcaacgggtttgc	Cebador directo del promotor EF1a/HTLV
764	gatatcgaattcctgcagcc	Cebador inverso justo en 5' de WPRE
765	cgccttgtcctccttgtccagctcctcctgttgccggacct	Sitio aceptor de corte y empalme previsto
766	cgccttgtcctccttgtcccgctcctcctgttgccggacct	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado
767	cagtttcttcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa	Sitio aceptor de corte y empalme previsto
768	accggattcctcctgattcaggcctggccagagaacagaac	Sitio aceptor de corte y empalme previsto
769	LPVLEQPPSTSGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNVVFWYQQLPGTAPKLVIYENNQRPSGV PDRFSVSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGS GGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGL EWMGRIIPILGTANYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGYSKS IVSYMDVWGQGTLVTVSS	scFv anti-BMCA
770	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVFWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLHASVVFGTGTKVTVLGSPGGGG SGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGRIIPILGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGYGS YPWDSWGQGTLVTVSS	scFV anti-BCMA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
771	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGG SGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQR LEWMGWIMPNSGGTNYAQKFQDRITVTRDTSSNTGYMELTRLRSDDTAVYYCARSPYSG VLDKWGQGTLVTVSS	scFV anti-BCMA
772	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGYSKGIVSIYMDVWGQGTLV TVSS	VH anti-BMCA
773	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGYGSYRWEDSWGQGTLVTV SS	VH anti-BMCA
774	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQRLEWMGWINPNSGGTN YAQKFQDRITVTRDTSSNTGYMELTRLRSDDTAVYYCARSPYSGVLDKWGQGTLVTVSS	VH anti-BMCA
775	LPVLTQPPSTSGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNVVFWYQQLPGTAPKLVIYRNNQRPSGV PDRFSVSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLG	VL anti-BMCA
776	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVFWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSASYVFGTGTKVTVLG	VL anti-BMCA
777	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLG	VL anti-BMCA
778	SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA	Enlazador
779	YFDSL	Epítopo BCMA
780	QNEYFDSLL	Epítopo BMCA
781	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNSVNWYRQLPGAAPKLLIYSNNQRPFGV PVRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEATYYCATWDDSLNVRVVFGTGTKVTVLGSPGGGG SGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYYS HDMWSEDWGQGTLVTVSS	scFv anti-BCMA
782	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAEMGAVFDIWGQGTMVTVSS GSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRISWPFTFGG GTKVEIK	scFv anti-BCMA
783	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRISWPFTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPG SGEGSTKGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAEMGAVFDIWGQ GTMVTVSS	scFv anti-BCMA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
784	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNEY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGTYLGGLNYFDLWSRGTLV TVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQG LSLPLTFGGGTKVEIK	scFv anti-BCMA
785	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLGLPLTFGGGTKVEIKRGSTSG SGKPGSGEGSTKGQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTYLGG LWYFDLWGRGTLVTVSS	scFv anti-BCMA
786	QVQLVQSGAEVKKPGRSVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARESWPMDVWGQGTTVTVSSGS TSGSGKPGSGEGSTKGEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYAAYPTFGGGTK VEIK	scFv anti-BCMA
787	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIP ARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYAAYPTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGS GEGSTKGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIIN PGGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARESWPMDVWGQGTT VTVSS	scFv anti-BCMA
788	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSISYSGST YYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAFDIWGQGTMV TVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNWPP TFGGGTKVEIK	scFv anti-BCMA
789	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRHVWPPTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPG SGEGSTKGQLQLQESGPSLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIG SISYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSRNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAFD IWGQGTMVTVSS	scFv anti-BCMA
790	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSTISSSSSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDYWGQGTLVTVS SGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRFYYPWTFG GGTKVEIK	scFv anti-BCMA
791	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRFYYPWTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPG SGEGSTKGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSTI SSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDYWG QGTLVTVSS	scFv anti-BCMA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
792	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWSGSPPGLDYWGQGTLV TVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGIYTFPF TFGGGTKVEIK	scFv anti-BCMA
793	GIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGIYTFPFTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPG SGEGSTKGQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWSGSPPGLD YWGQGTLVTVSS	scFv anti-BCMA
794	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARTPEYSSSIWHYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSS NNKNYLAWYQQKPGQPPKLLTYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQEAHTPFTFGGGTKVEIK	scFv anti-BCMA
795	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQEAHTPFTFGGGTKVEIKRGSTS GSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGL EWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARTPEYSS SIWHYYYGMDVWGQGTTVTVSS	scFv anti-BCMA
796	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKGFLQEPFYDYGMDVWGQGTT VTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVMSQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWY QQKPGQAPRLLIYSASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYRHWP LTFGGGTKVEIK	scFv anti-BCMA
797	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYSASTRATGIP ARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHHVWPLTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPG SGEGSTKGQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRGFLQEPFYDYGM DVWGQGTTVTVSS	scFv anti-BCMA
798	GIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLE TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAAIYYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGSTSGSG KPGSGEGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSINWVRQAPGQGLEWM GWINTETREPAYAYDFRGFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYW GQGTLVTVSS	scFv anti-BCMA
799	GIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLE TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAAIYYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGSTSGSG KPGSGEGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSINWVRQAPGQGLEWM GWINTETREPAYAYDFRGFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYW GQGTLVTVSS	scFv anti-BCMA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
800	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPRLLIYLASNLE TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAAIYYCLQSRIFETFGQGTKLEIKGSTSGSG KPGSGEGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSINWVRQAPGQGLEWM GWINTETREPAYAYDFRGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYW GQGTLVTVSS	scFv anti-BCMA
801	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRPAPGKGLEWVSGIVYSGSTYY AASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSARGGRSDVWGQGTTVTVSSASG GGSGGPASSGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDPVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKV EIK	scFv anti-BCMA
802	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLSWVSGISRSGENTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCAPSPAHYYGMDVWGQGTTVTV SSASGGGGSGGGASGGGGSDIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQK PGQAPRLLIYGASPRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWT FGQGTKLEIK	scFv anti-BCMA
803	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRPAPGKGLEWVSGIVYSGSTYY AASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSARGGRSDVWGQGTTVTVSSASG GGSGGPASSGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDPVTITCQASEDINKFLNWYHQTPGKAPK LLIYDASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIGTYYCQQYESLPLTFGGGTKV EIK	scFv anti-BCMA
804	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRPAPGKGLEWVSGIVYSGSTYY AASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSARGGESDVWGQGTTVTVSSASG GGSGGPASSGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSIGSSLAWYQQKPGQAP RLLMYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPFTFGQGT KVEIK	scFv anti-BCMA
805	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPA YAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSSG GGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAMSLGKRATISCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTIDPVEEDDVAIYSCLQSRIFPRTFGG GTKLEIK	scFv anti-BCMA
806	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPI YADDFKGRFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCGNGYLYSLDFWGQGTALTVSSG GGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPG QPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGG GTKLEIK	scFv anti-BCMA
807	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPL YADDFKGRFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCGNGYLYSCDYWGQGTTLTVSSG GGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPG QPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGG GTKLEIK	scFv anti-BCMA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
808	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYPASGNSE YNQKFTGRVTMTRDTSISTAYMELSSLTSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGYTYLHWYLQ KPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPWT FGQGTKLEIK	scFv anti-BCMA
809	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYPASGNSE YNQKFTGRVTMTRDTSISTAYMELSSLTSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGYTYLHWYLQ KPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPWT FGQGTKLEIK	scFv anti-BCMA
810	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYPASGNSE YNQKFTGRVTMTRDTSISTAYMELSSLTSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGYTYLHWYLQ KPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPWT FGQGTKLEIK	scFv anti-BCMA
811	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYPASGNSE YNQKFTGRVTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGYTYLHWYLQ KPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVPWT FGQGTKLEIK	scFv anti-BCMA
812	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYPASGNSE YNQKFTGRVTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGYTYLHWYLQ KPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVPWT FGQGTKLEIK	scFv anti-BCMA
813	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYPASGNSE YNQKFTGRVTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGYTYLHWYLQ KPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVPWT FGQGTKLEIK	scFv anti-BCMA
814	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREGVICISPSDGSTY YADSVKGRFTISRDNAIKTVYLQMISLKPEDTAAYYCAAGADCSGYLRDYEFRGQGTQV TVSS	VH anti-BCMA
815	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN YAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYYSHDWSEDWGQGTLVT VSS	VH anti-BMCA
816	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAEMGAVFDIWGQGTMVTVSS	VH anti-BMCA
817	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTYLGGLWYFDLWGRGTLV TVSS	VH anti-BMCA
818	QVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPGGGSTS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARESWPMDVWGQGTTVTVSS	VH anti-BMCA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
819	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSISYSGST YYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAFDIWGQGTMV TVSS	VH anti-BMCA
820	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSTISSSSSTIY YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEKLLEDYWGQGTLVTVS S	VH anti-BMCA
821	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDVSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDTWSGSPPGLDYWGQGTLV TVSS	VH anti-BMCA
822	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARIPEYSSSIWRYYYGMDVWGQ GTTVTVSS	VH anti-BMCA
823	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKGPLQEPFDYGMDVWGQGTT VTVSS	VH anti-BMCA
824	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSINWVRQAPGQGLEWMGWINTETREPA YAYDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYWGQGTLVTVSS	VH anti-BMCA
825	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYY AASVKGRFTISRDNSPNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS	VH anti-BMCA
826	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISPSGENTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRGEDTAVYYCARSPAHYYGSMDVWGQGTTVTV SS	VH anti-BMCA
827	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYY AASVKGRFTISRDNSPNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS	VH anti-BMCA
828	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYY AASVKGRFTISRDNSPNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS	VH anti-BMCA
829	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPI YADDFKGRFAFSVETSASTAYLVINNLKNEDMATYFCSNDYLYSLDSWGQGTALTVSS	VH anti-BMCA
830	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPL YADDFKGRFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDMATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSS	VH anti-BMCA
831	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYPASGNSE YNQKFTGRVTMTRDTSISTAYMELSRLTSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVS S	VH anti-BMCA
832	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYPASGNSE YNQKFTGRVTMTRDISSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVS S	VH anti-BMCA
833	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGRSSNIGSNSVNWYRQLPGAAPKLLIYSRNQRPSGV PVRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEATYYCATWDDSLNVRIYVFGTGTKVTVLG	VL anti-BCMA
834	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP APFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRISWPFTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
835	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQLPLTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA
836	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIP ARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYAAYPFTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA
837	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRHVWPPTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA
838	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRYYYPWTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA
839	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQIYTFPFTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA
840	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQFAHTPFTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA
841	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYSASTRATGIP ARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHHVWPLTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA
842	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLE TGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAATYYCLQSRIFERTFGQGTKLEIK	VL anti-BCMA
843	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK	VL anti-BCMA
844	DIVLTQSPGTLSLSPGEPATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASPRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKLEIK	VL anti-BCMA
845	DIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDIYKFLNWYHQTPGKAPKLLIYDASTLQTGVP SRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYYCQQYESLPLTFGGGTKVEIK	VL anti-BCMA
846	EIVLTQSPGTLSLSPGEPATLSCRASQSISSSLAWYQQKPGQAPRLLNYGASSRASGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYASSPFTFGQGTKVEIK	VL anti-BCMA
847	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQ TGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRIIPRTFGGGTKLEIK	VL anti-BCMA
848	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCVQGSHYPWTFGQGTKLEIK	VL anti-BCMA
849	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR FSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAQTSHVPWTFGQGTKLDIK	VL anti-BCMA
850	atgcttctcctggtgacaagccttctgctctgtgagttaccacacccagcattcctcct gatccca	Secuencia señal de la cadena alfa de GMCSFR
851	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIP	Péptido señal de la cadena alfa de GMCSFR
852	MALPVTALLLPLALLLHA	Péptido señal de CD8 alfa
853	MPLLLLLPLLWAGALA	Péptido señal CD33
854	aagtttctttctgtattccagactgaccgtggataaatctc	Sitio aceptor de corte y empalme optimizado

(continuación)

SEQ ID NO	SECUENCIA	Descripción
855	GAGTCTAAATACGACGACGCCTTGNCTCCTTGTCCAAGCTNCTCCTTGTTACCGAGACCTTC CGTGTTCTCTATTTTCTCTCCAAAAGCCTAAGGACAACCTCATGATGATCAGCAAGCAGCCTGAAG TGACCTGCGTGTGGTGATGTCCAACGACAGGATCCCGAGCTGTGACTTCAATTGGTGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCACACCGCCGACAAGCAGACCCAGGAGGAGCAGTTCCAGAG CACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAG AGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCTAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAACCACAGGTTTACACACCTGCCTCCCAAGCTGACGAG AATGACCAGGTCAGCCTGTGGTGCCTGATCCCCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATA TCGCCGTGGAATGGGAGAGCGACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCTG GTGGTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTAC ACACCAGAAAGCCTGAGCCTGTCTCCGGGCAAA	Espaciador - con codones optimizados (nt)
856	gaatctaagtacgacgacgccttgtgtccttgtccaagctnctccttgttaccgagaccttc cgtgttctctattttctctccaaaagcctaaggacaacctcatgatgatcagcaagcagcctgaag tgacctgcgtgtggtgatgtccaacgacaggatcccgagctgtgacttcaattggtgtac gtggacggcgtggaggtgcacaccgccgacaagcagacccaggaggagcagttccagag cacctacagagtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaag agtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcctgcctagcagcatcgagaaaaccatctcc aaggccaagggccagcccagagaaccacaggtttacaccctgcctcccaagctgacgag aatgaccaggtcagcctgtggtgcctgatcccctggtcaagggcttctaccccagcgata tcgccgtggaatgggagagcgacggccagcctgagaacaactacaagaccacccctcctg gtggtggacagcgacggcagcttcttcctgtacagcaagctgaccgtggacaagagcagg tggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactac acccagaaagcctgagcctgtctccgggcaaa	Espaciador CO/SSE alternativo (nt)

REIVINDICACIONES

1. Un polinucleótido que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR), en donde:

(i) el CAR comprende: (a) un dominio de unión a antígeno extracelular que reconoce específicamente el antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA); (b) un espaciador de al menos 125 aminoácidos de longitud;
(c) un dominio transmembrana; y (d) una región de señalización intracelular; y
(ii) la secuencia de ácido nucleico que codifica el espaciador comprende al menos un sitio donante de corte y empalme y/o aceptor de corte y empalme modificado, correspondiendo el sitio donante y/o aceptor de corte y empalme modificado que comprende una o más modificaciones de nucleótidos a un sitio donante y/o aceptor de corte y empalme de referencia contenido en la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 621; en donde:

el sitio donante de corte y empalme modificado se expone en agtctaaatacggac (SEQ ID NO:661), teaactggtattgg (SEQ ID NO:662), accatctccaaggce (SEQ ID NO:663) y/o gecccaggitacac (SEQ ID NO:664); y/o
el sitio aceptor de corte y empalme modificado se expone en cagtitettectgtatagtagactcaccgtggataaatcaa (SEQIDNO:672)., gggcaacgtgttcagctgcagegtgatgcacgaggecotge (SEQIDNO:673) y/o cgcettgtectcettgtecegetectectgitgecggacct (SEQ ID NO: 766).

2. El polinucleótido de la reivindicación 1, en donde el sitio donante de corte y empalme modificado se expone en la SEQ ID NO: 662 y/o el sitio aceptor de corte y empalme modificado se expone en la SEQ ID NO: 672.

3. El polinucleótido de las reivindicaciones 1 o 2, en donde después de la expresión del polinucleótido en una célula humana, el ARN a partir del polinucleótido, presenta:

(a) al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de homogeneidad del ARN; y/o
(b) heterogeneidad reducida en comparación con la heterogeneidad del ARNm transcrito a partir de un polinucleótido de referencia, codificando dicho polinucleótido de referencia la misma secuencia de aminoácidos que el polinucleótido, en donde el polinucleótido de referencia difiere por la presencia de uno o más sitios donantes de corte y empalme y/o uno o más sitios aceptores de corte y empalme en el ácido nucleico que codifica el espaciador y/o comprende una o más modificaciones de nucleótidos en comparación con el polinucleótido y/o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 621.

4. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el espaciador codificado comprende una secuencia de una región bisagra, una región C_H2 y una región C_H3.

5. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el espaciador codificado es o comprende (i) la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 649; (ii) una variante funcional de la SEQ ID NO: 649 que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 649; o
(iii) una porción contigua de (i) o (ii) que tiene al menos 125 aminoácidos de longitud.

6. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el espaciador está codificado por la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 622.

7. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el polinucleótido tiene codones optimizados para su expresión en una célula humana.

8. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el dominio de unión a antígeno codificado es un fragmento de anticuerpo que comprende una región de cadena pesada variable (V_H) y una región de cadena ligera variable (V_L).

9. El polinucleótido de la reivindicación 8, en donde:

la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 617 y 618, respectivamente; o
la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 256 y 267, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 256 y 267, respectivamente; o
la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 519 y 535, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 519 y 535, respectivamente; o
la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 115 y 536, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO: 115 y 536, respectivamente; o
la región V_H y las regiones V_L comprenden la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 609 y 610, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad con las SEQ ID NO:

609 y 610, respectivamente.

10. El polinucleótido de las reivindicaciones 8 o 9, en donde:

la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 593, 594 y 595, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 601, 602 y 603, respectivamente; o
la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 157, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 178, 183 y 194, respectivamente; o
la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 1, 4 y 7, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 380, 400 y 416, respectivamente; o
la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 5 y 10, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 33, 43 y 421, respectivamente; o
la región V_H comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 507, 513 y 517, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 589, 590 y 591, respectivamente.

11. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en donde:

la región V_H es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 617; y la región V_L es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 618;
la región V_H es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 256; y la región V_L es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 267;
la región V_H es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 519; y la región V_L es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 535;
la región V_H es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 115; y la región V_L es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 536; o
la región V_H es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 609; y la región V_L es o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 610.

12. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en donde el fragmento comprende un scFv.

13. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 8-12, en donde la región V_H es aminoterminal con respecto a la región V_L o la región V_H es carboxiterminal con respecto a la región V_L.

14. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 8-13, en donde:

(a) el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 478, 278, 559, 560 o 442, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos seleccionada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 478, 278, 559, 560 o 442; y/o
(b) el ácido nucleico que codifica el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 460, 440, 715, 717 o 719.

15. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde la región de señalización intracelular comprende un dominio de señalización citoplasmática activador, en donde el dominio de señalización citoplasmática activador es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) y/o comprende un motivo de activación inmunorreceptor a base de tirosina (ITAM).

16. El polinucleótido de la reivindicación 15, en donde el dominio de señalización citoplasmática activador es o comprende un dominio de señalización citoplasmática de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de la misma.

17. El polinucleótido de la reivindicación 16, en donde:

(a) el dominio de señalización citoplasmática es o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 628 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 628, y/o
(b) el ácido nucleico que codifica el dominio de señalización citoplasmática es o comprende la secuencia expuesta

en la SEQ ID NO: 627 o es una secuencia con codones optimizados y/o una secuencia degenerada de la misma, y/o
(c) el ácido nucleico que codifica el dominio de señalización citoplasmática es o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 652.

18. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en donde la región de señalización intracelular comprende además una región de señalización coestimuladora.

19. El polinucleótido de la reivindicación 18, en donde la región de señalización coestimuladora comprende un dominio de señalización intracelular de un CD28, un 4-1BB o un ICOS o una porción de señalización de los mismos.

20. El polinucleótido de la reivindicación 19, en donde:

(a) la región de señalización coestimuladora es o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 626 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 626, y/o
(b) el ácido nucleico que codifica la región coestimuladora es o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 625 o es una secuencia con codones optimizados y/o una secuencia degenerada de la misma, y/o
(c) el ácido nucleico que codifica la región de señalización coestimuladora comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 681, y/o
(d) la región de señalización intracelular comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 628 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 628 y la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 626 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 626, y/o
(e) la región de señalización intracelular es o comprende las secuencias expuestas en la SEQ ID NO: 628 y la SEQ ID NO: 626.

21. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en donde el dominio transmembrana es o comprende un dominio transmembrana de CD4, CD28 o CD8.

22. El polinucleótido de la reivindicación 21, en donde:

(a) el dominio transmembrana es humano o es de una proteína humana, y/o
(b) el dominio transmembrana es o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 624 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 624, y/o
(c) el ácido nucleico que codifica el dominio transmembrana es o comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 623 o es una secuencia con codones optimizados y/o una secuencia degenerada de la misma.

23. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-22, en donde el polinucleótido codifica además un receptor truncado.

24. El polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en donde el polinucleótido comprende la secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 751-756 o una secuencia que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 751-756 y el receptor codificado conserva la función de unirse a BCMA y conserva la heterogeneidad del ARN reducida.

25. Un vector que comprende el polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-24.

26. El vector de la reivindicación 25, en donde el vector es un vector vírico, opcionalmente un vector retrovírico o un vector lentivírico.

27. Una célula modificada por ingeniería, que comprende el polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-24 o el vector de las reivindicaciones 25 o 26.

28. La célula modificada por ingeniería de la reivindicación 27, en donde la célula es una célula inmunitaria, opcionalmente en donde:

(a) la célula inmunitaria es una célula primaria obtenida de un sujeto, y/o
(b) la célula inmunitaria es un linfocito NK o un linfocito T.

29. Una composición que comprende el polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-24 o el vector de las reivindicaciones 25 o 26, o la célula modificada por ingeniería de las reivindicaciones 27 o 28.

30. La célula modificada por ingeniería de las reivindicaciones 27 o 28 o la composición de la reivindicación 29, para

su uso en un método de tratamiento.

31. La célula modificada por ingeniería de las reivindicaciones 27 o 28 o la composición de la reivindicación 29, para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno asociados a la expresión del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA).

32. La célula modificada por ingeniería o la composición para el uso de la reivindicación 31, en donde la enfermedad o el trastorno asociados a la expresión del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA) es mieloma múltiple (MM).

33. La célula modificada por ingeniería o la composición para el uso de las reivindicaciines 31 o 32, en donde la dosis de linfocitos T modificados por ingeniería comprende entre 1×10^7, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR y 2×10^9, o aproximadamente, linfocitos T que expresan CAR.

34. La célula modificada por ingeniería o la composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 31-33, en donde:

(a) antes de la administración, el sujeto ha recibido una terapia de linfoagotamiento que comprende la administración de fludarabina a 20-40 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, a diario, durante 2-4 días, y/o ciclofosfamida a 200-400 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, durante 2-4 días, y/o
(b) el sujeto ha recibido una terapia de linfoagotamiento que comprende la administración de fludarabina a 30 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, a diario, y ciclofosfamida a 300 mg/m^2 de superficie corporal del sujeto, o aproximadamente, a diario, durante 3 días.

35. Las células modificadas por ingeniería o la composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 31-34, en donde en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recibido tres o más terapias previas para la enfermedad o el trastorno.

36. Las células modificadas por ingeniería o la composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 31-35, en donde:

(a) en el momento de la administración de la dosis de células, y/o en el momento de la quimioterapia de linfoagotamiento o la leucocitaféresis, el sujeto no ha tenido leucemia de células plasmáticas (LCP) activa ni antecedentes de la misma, y/o
(b) en el momento de la administración de la dosis de células el sujeto ha desarrollado una leucemia de células plasmáticas (LCP) secundaria, y/o
(c) en el momento de la administración, el sujeto:

(i) ha recaído o ha sido refractario después de al menos 3 o al menos 4 terapias previas para el mieloma múltiple; y/o
(ii) es un sujeto adulto o tiene 25 o 35 años de edad o más; y/o
(iii) tiene un tiempo transcurrido desde el diagnóstico de mieloma múltiple de aproximadamente 4 años o entre 2 y 15 o 2 y 12 años; y/o
(iv) ha recibido aproximadamente 10 o entre 3 y 15 o entre 4 y 15 pautas previas para el mieloma múltiple; y/o
(v) ha sido refractario o no ha respondido a bortezomib, carfilzomib, lenalidomida, pomalidomida y/o un anticuerpo monoclonal anti-CD38; y/o
(vi) ha tenido un trasplante autólogo de células madre previo o no ha tenido un trasplante autólogo de células madre previo; y/o
(vii) tiene citogenética de alto riesgo del IMWG.

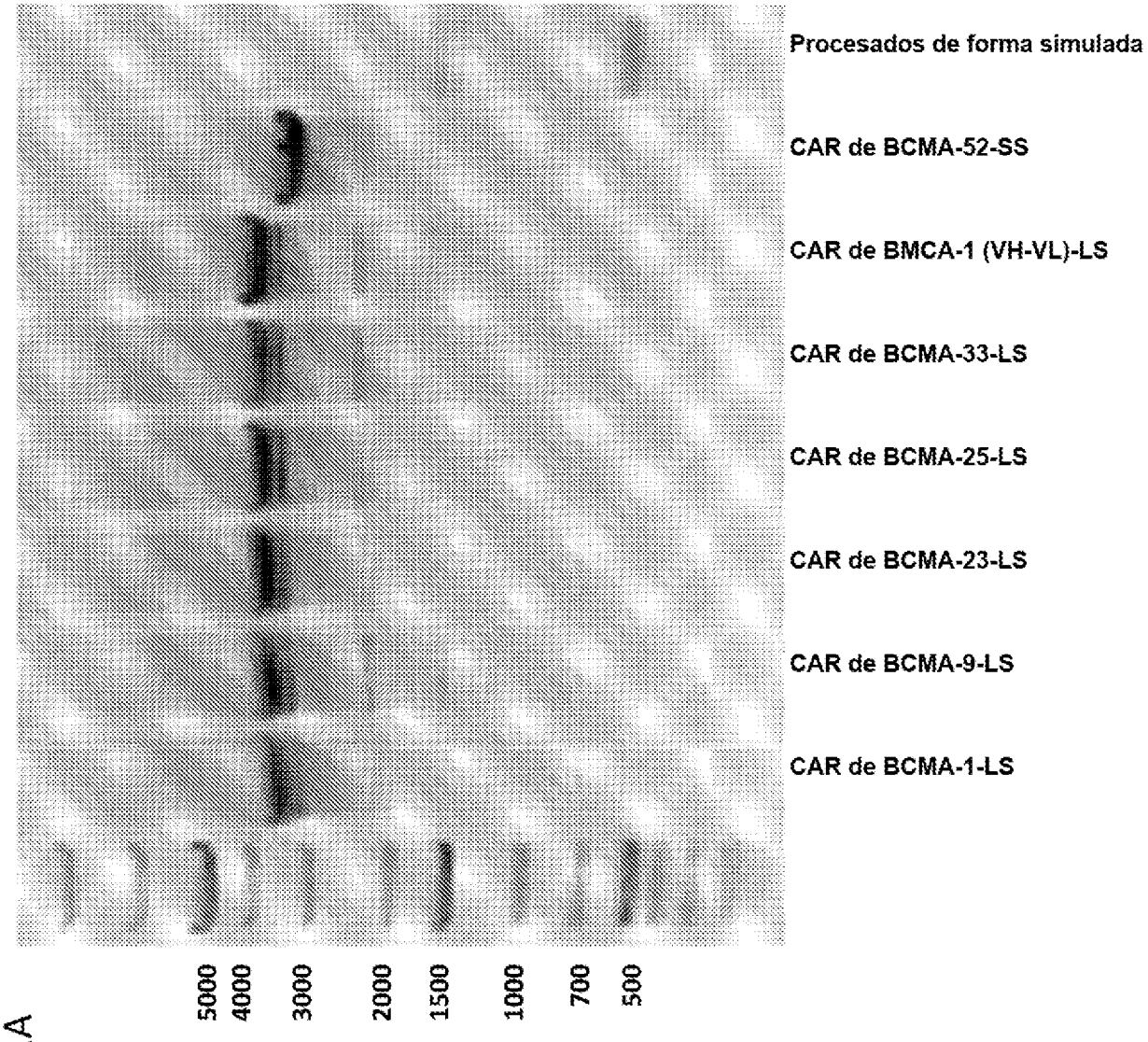

Procesados de forma simulada
CAR de BCMA-52-SS
CAR de BMCA-1 (VH-VL)-LS
CAR de BCMA-33-LS
CAR de BCMA-25-LS
CAR de BCMA-23-LS
CAR de BCMA-9-LS
CAR de BCMA-1-LS
5000
4000
3000
2000
1500
1000
700
500

FIG. 1A

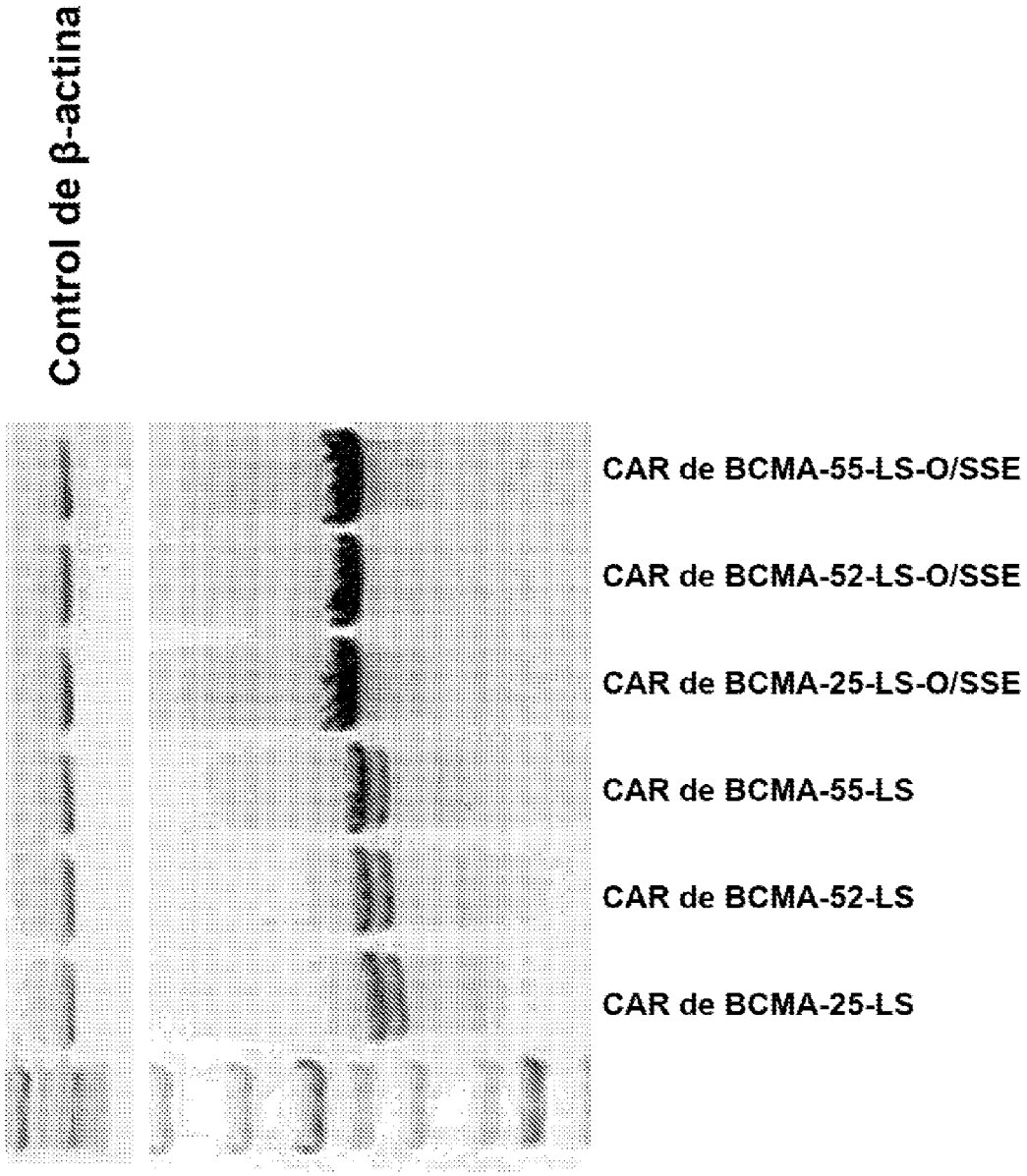

Control de β-actina
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE
CAR de BCMA-52-LS-O/SSE
CAR de BCMA-25-LS-O/SSE
CAR de BCMA-55-LS
CAR de BCMA-52-LS
CAR de BCMA-25-LS

FIG. 1B

FIG. 2

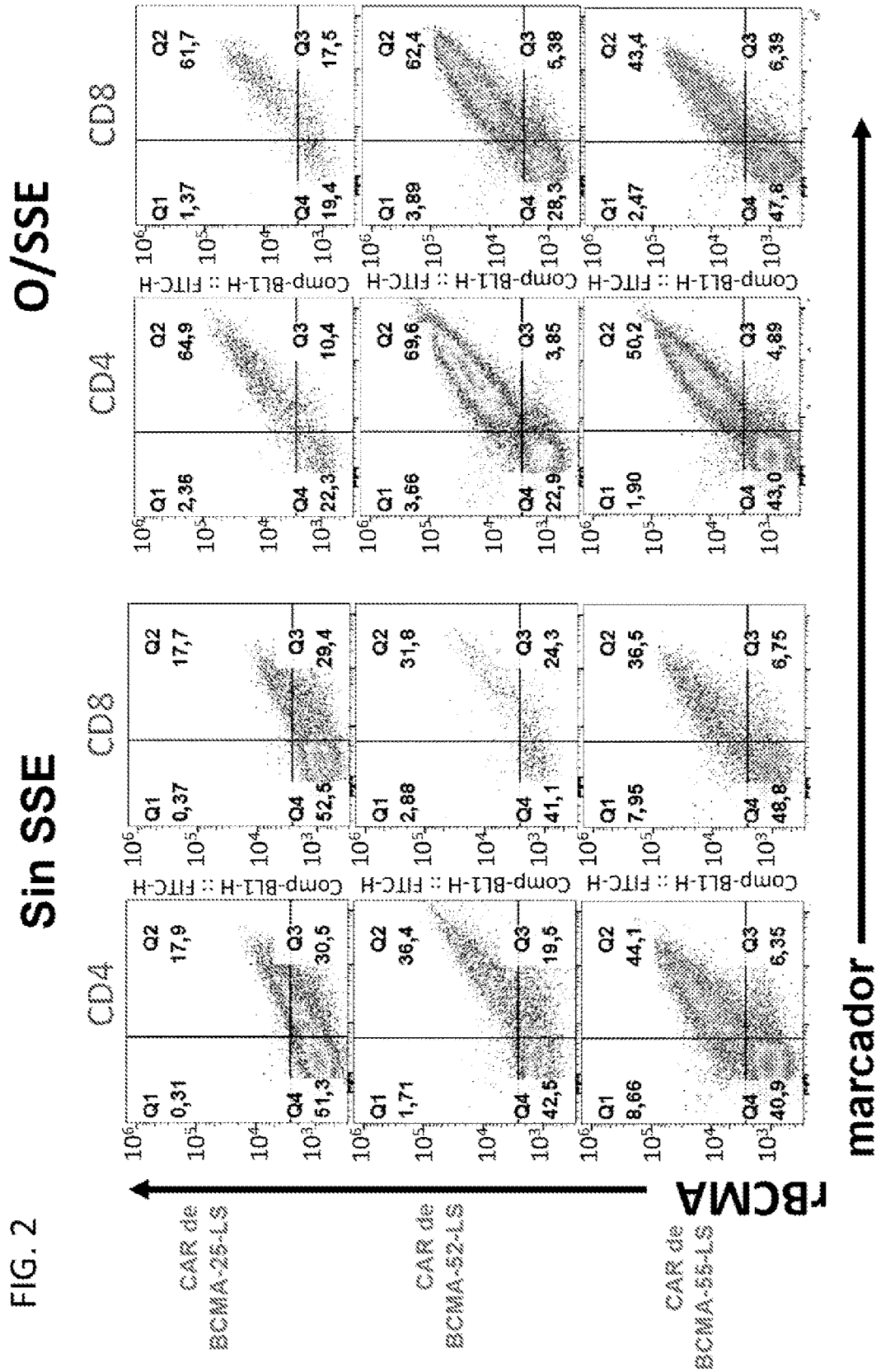

Sin SSE
O/SSE
CD4
CD8
rBCMA
marcador
CAR de BCMA-26-LS
CAR de BCMA-32-LS
CAR de BCMA-55-LS
Comp-BL1-H :: FITC-H
Q1 0,31
Q2 17,9
Q3 30,5
Q4 51,3
Q1 0,37
Q2 17,7
Q3 29,4
Q4 52,5
Q1 2,36
Q2 64,9
Q3 10,4
Q4 22,3
Q1 1,37
Q2 61,7
Q3 17,5
Q4 19,4
Q1 1,71
Q2 36,4
Q3 19,5
Q4 42,5
Q1 2,88
Q2 31,8
Q3 24,3
Q4 41,1
Q1 3,66
Q2 69,6
Q3 3,85
Q4 22,9
Q1 3,89
Q2 62,4
Q3 5,38
Q4 28,3
Q1 8,66
Q2 44,1
Q3 6,35
Q4 40,9
Q1 7,95
Q2 36,5
Q3 6,75
Q4 48,8
Q1 1,90
Q2 50,2
Q3 4,89
Q4 43,0
Q1 2,47
Q2 43,4
Q3 6,39
Q4 47,8

FIG. 3

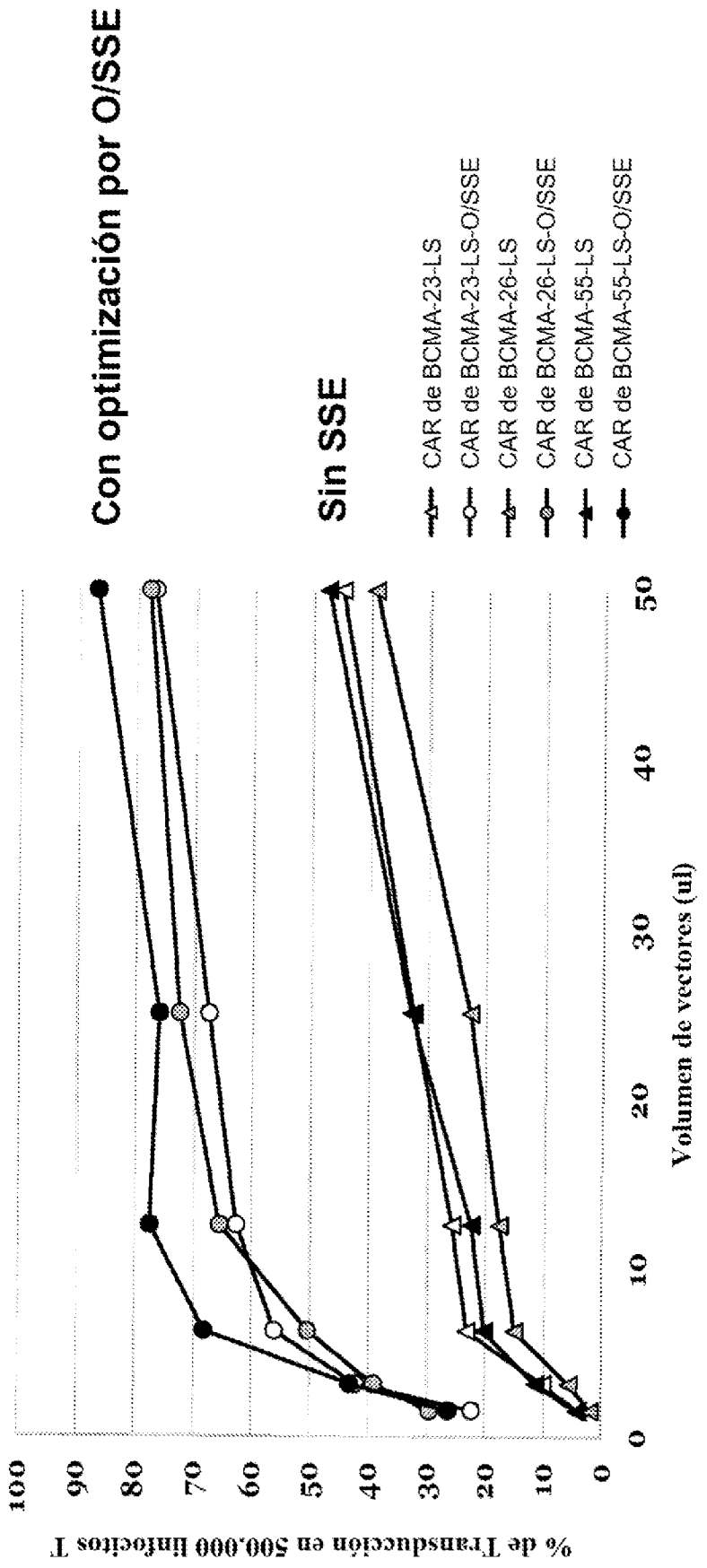
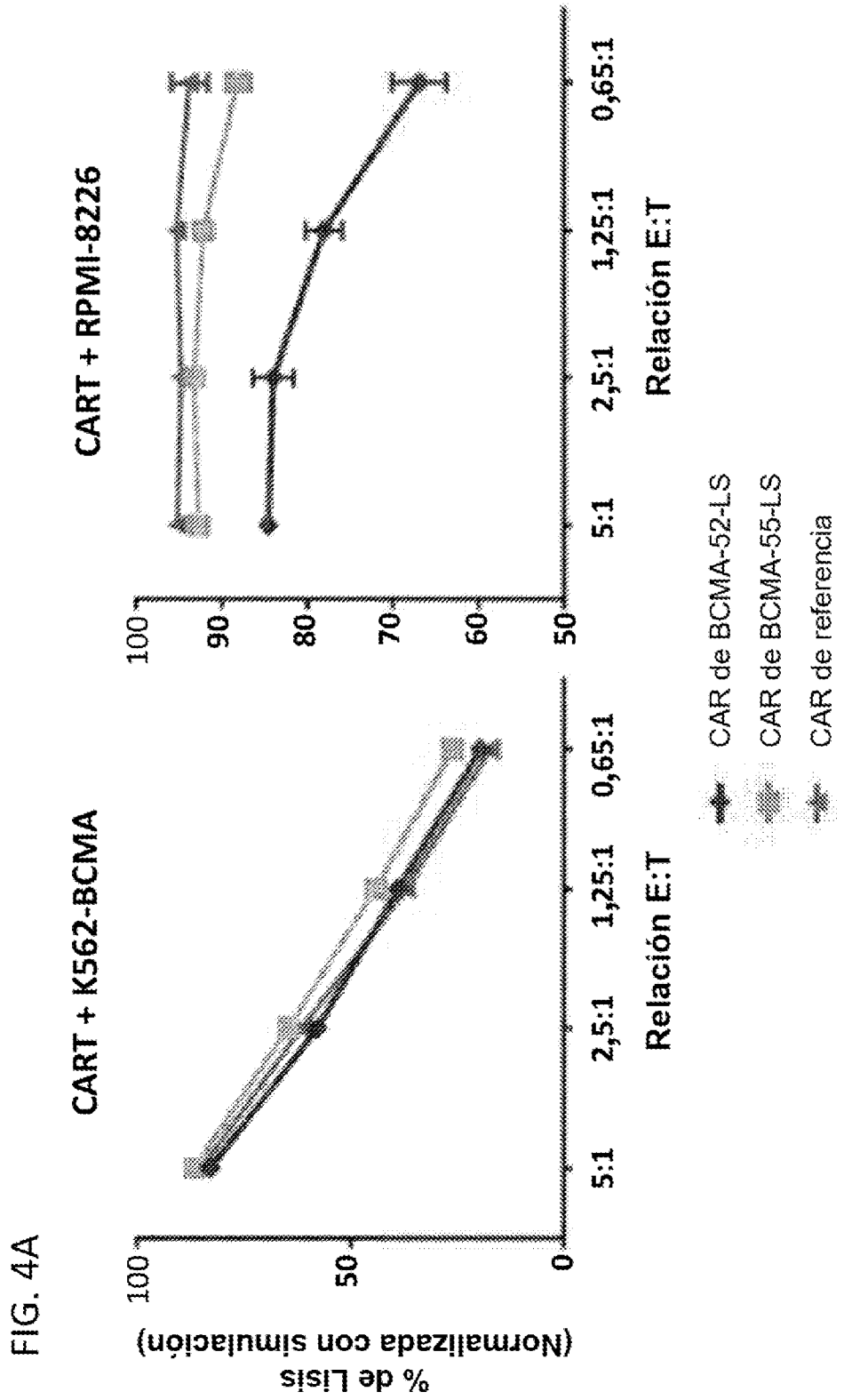

Con optimización por O/SSE
Sin SSE
CAR de BCMA-23-LS
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE
CAR de BCMA-26-LS
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE
CAR de BCMA-55-LS
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE
% de Transducción en 500.000 linfocitos T
Volumen de vectores (ul)
0
10
20
30
40
50
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100

FIG. 4A


CART + K562-BCMA
CART + RPMI-8226
% de Lisis
(Normalizada con simulación)
100
50
0
100
90
80
70
60
50
5:1
2,5:1
1,25:1
0,65:1
Relación E:T
CAR de BCMA-52-LS
CAR de BCMA-55-LS
CAR de referencia

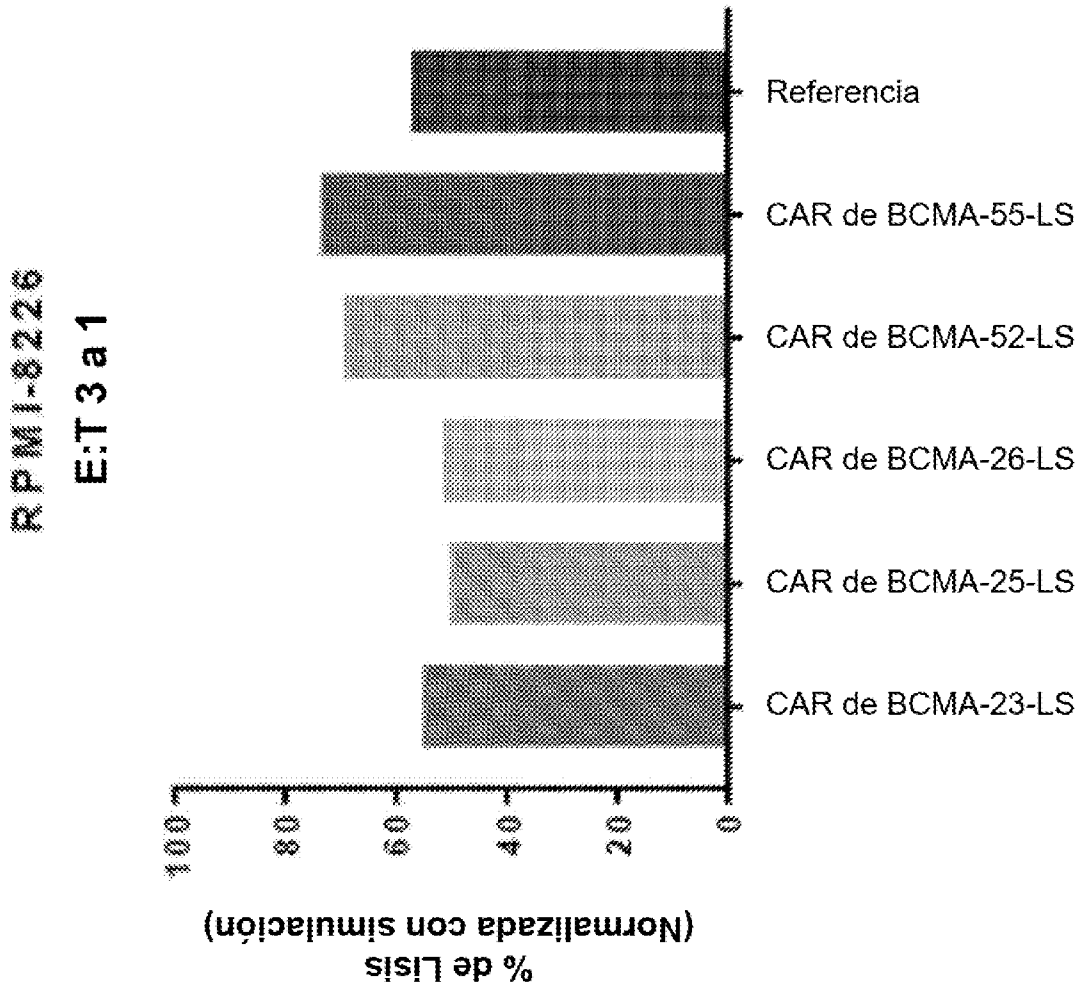

RPMI-8226
E:T 3 a 1
Referencia
CAR de BCMA-55-LS
CAR de BCMA-52-LS
CAR de BCMA-26-LS
CAR de BCMA-25-LS
CAR de BCMA-23-LS
100
80
60
40
20
0
% de Lisis
(Normalizada con simulación)

FIG. 4B

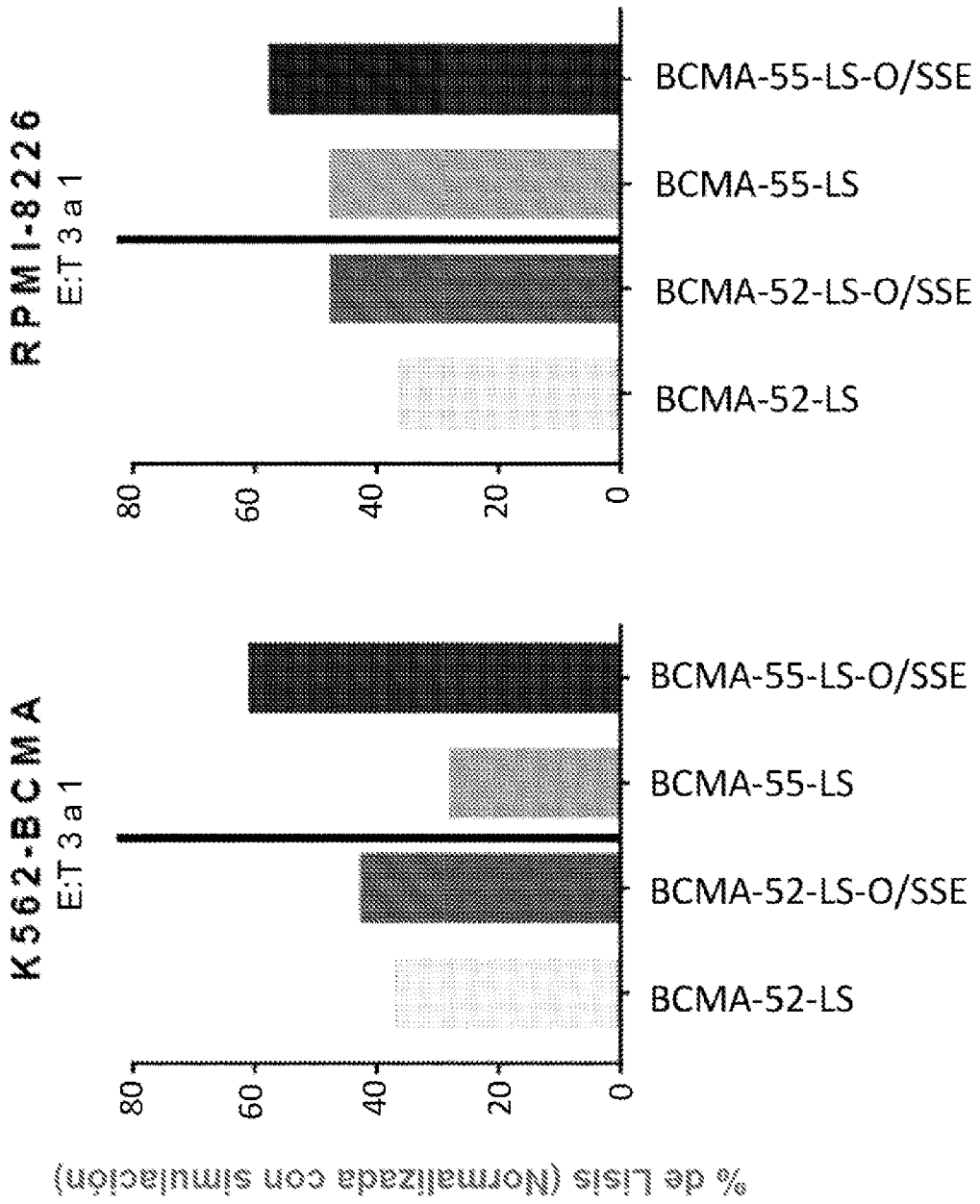

RPMI-8226
E:T 3 a 1
BCMA-55-LS-O/SSE
BCMA-55-LS
BCMA-52-LS-O/SSE
BCMA-52-LS
80
60
40
20
0
K562-BCMA
E:T 3 a 1
BCMA-55-LS-O/SSE
BCMA-55-LS
BCMA-52-LS-O/SSE
BCMA-52-LS
80
60
40
20
0
% de Lisis (Normalizada con simulación)

FIG. 4C

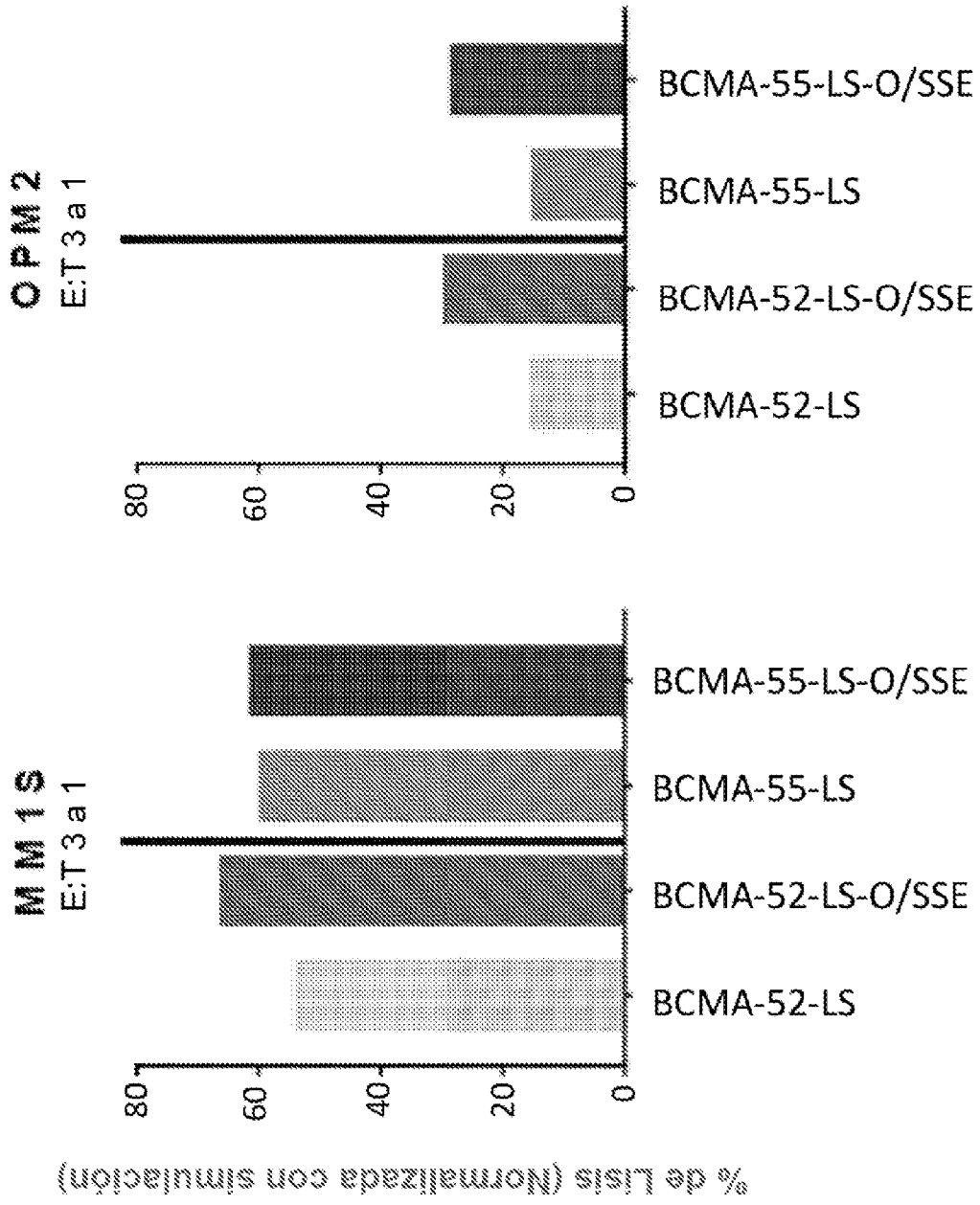

OPM2
E:T 3 a 1
BCMA-55-LS-O/SSE
BCMA-55-LS
BCMA-52-LS-O/SSE
BCMA-52-LS
80
60
40
20
0
MM1S
E:T 3 a 1
BCMA-55-LS-O/SSE
BCMA-55-LS
BCMA-52-LS-O/SSE
BCMA-52-LS
80
60
40
20
0
% de Lisis (Normalizada con simulación)

FIG. 4D

FIG. 5A

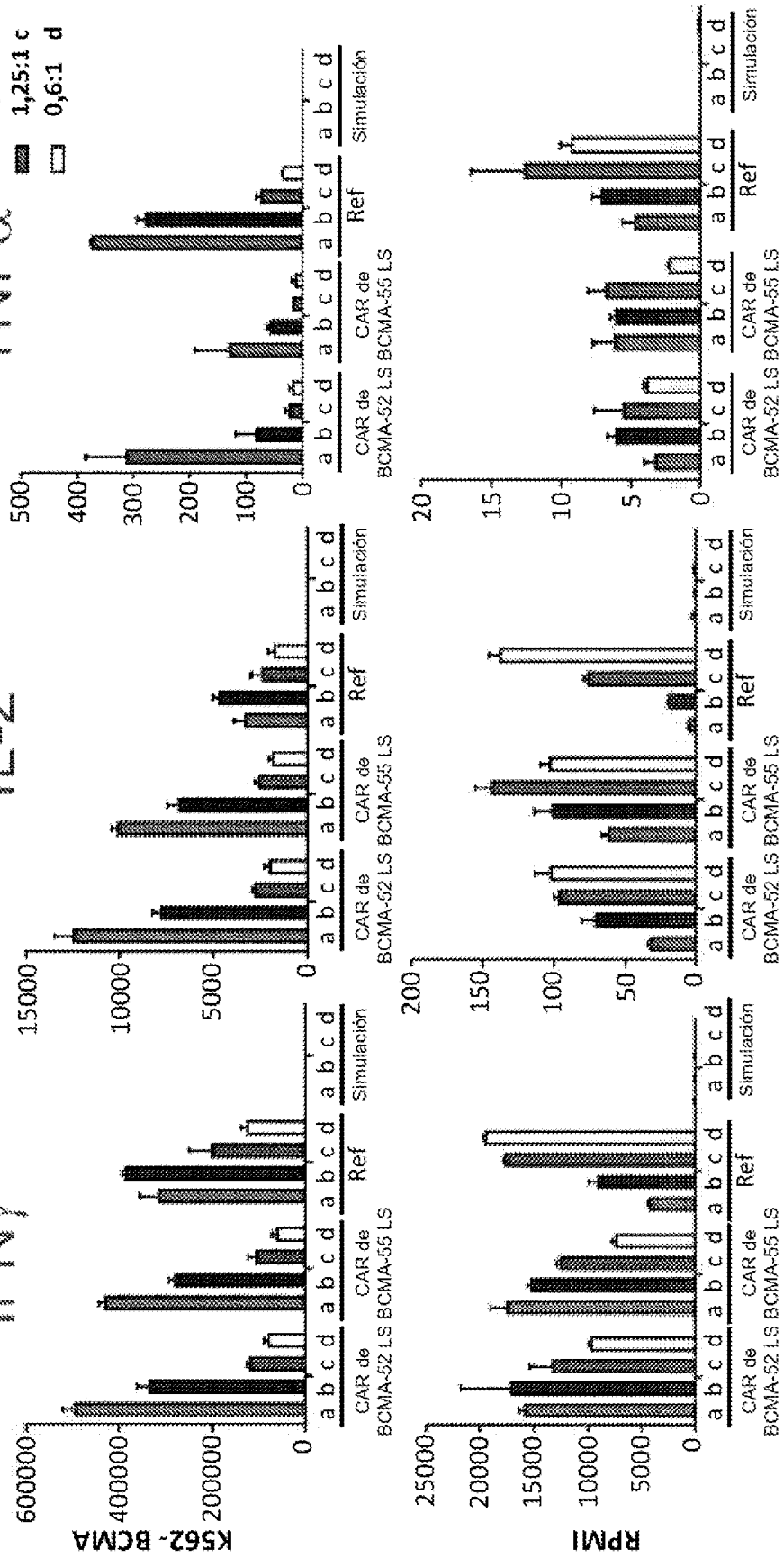

IFNγ
IL-2
TNFα
5:1 a
2,5:1 b
1,25:1 c
0,6:1 d
K562- BCMA
RPMI
CAR de BCMA-52 LS BCMA-55 LS
Ref
Simulación

FIG. 5B

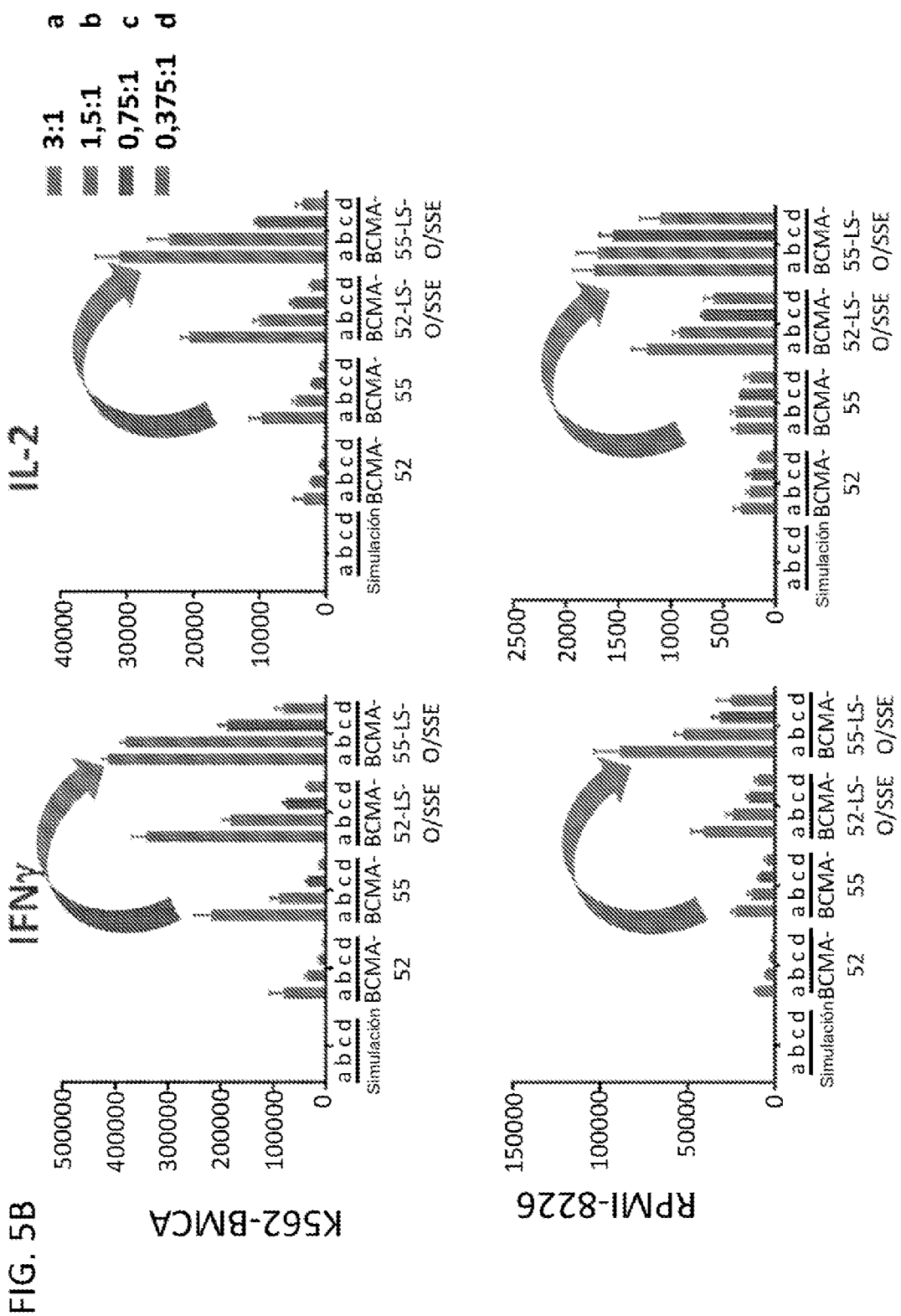
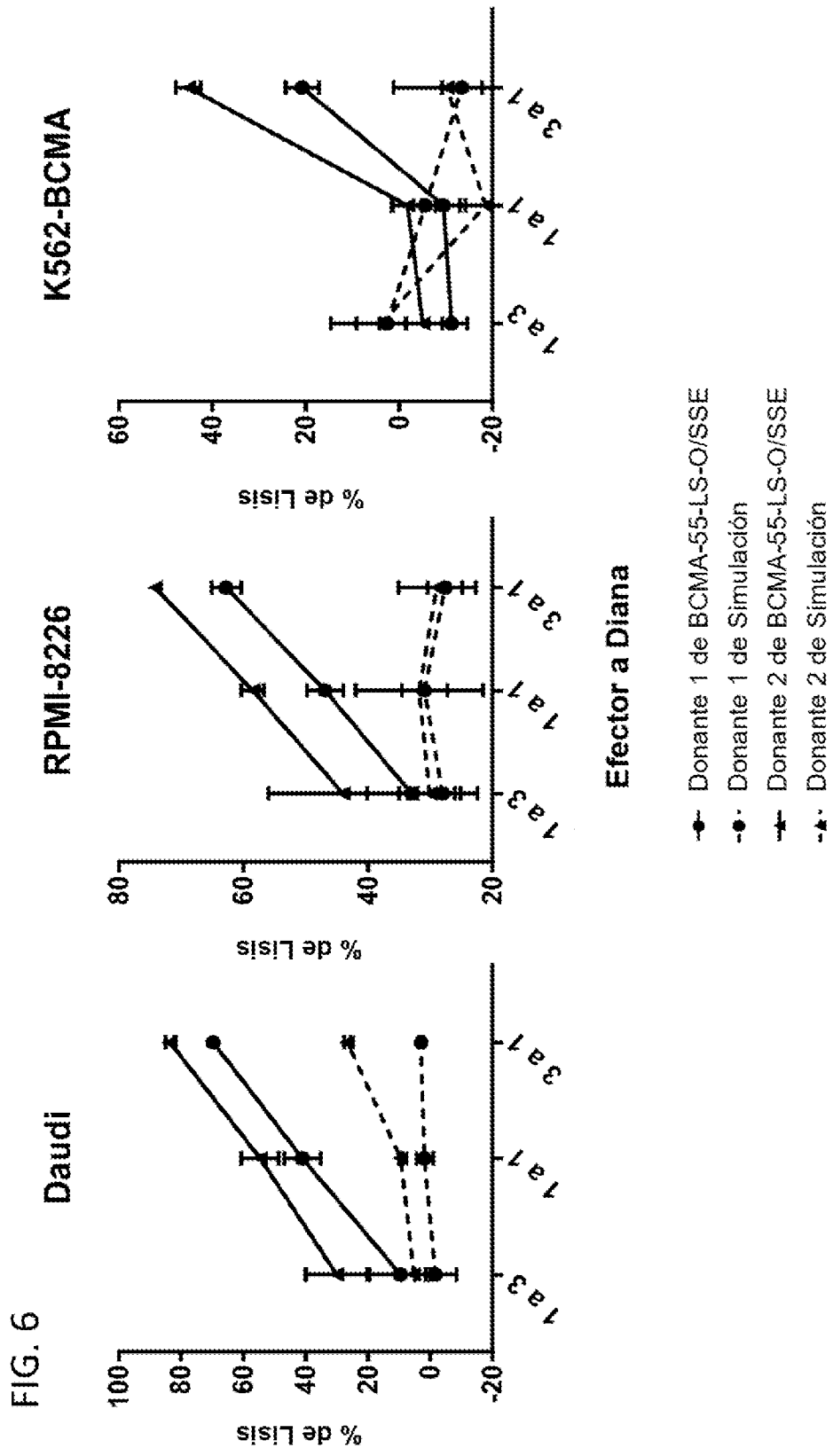

IFNγ
IL-2
3:1 a
1,5:1 b
0,75:1 c
0,375:1 d
K562-BMCA
RPMI-8226
Simulación
BCMA-
52
55
52-LS-
55-LS-
O/SSE

FIG. 6


Daudi
RPMI-8226
K562-BCMA
% de Lisis
Efector a Diana
1a 3
1a 7
3a 7
Donante 1 de BCMA-55-LS-O/SSE
Donante 1 de Simulación
Donante 2 de BCMA-55-LS-O/SSE
Donante 2 de Simulación

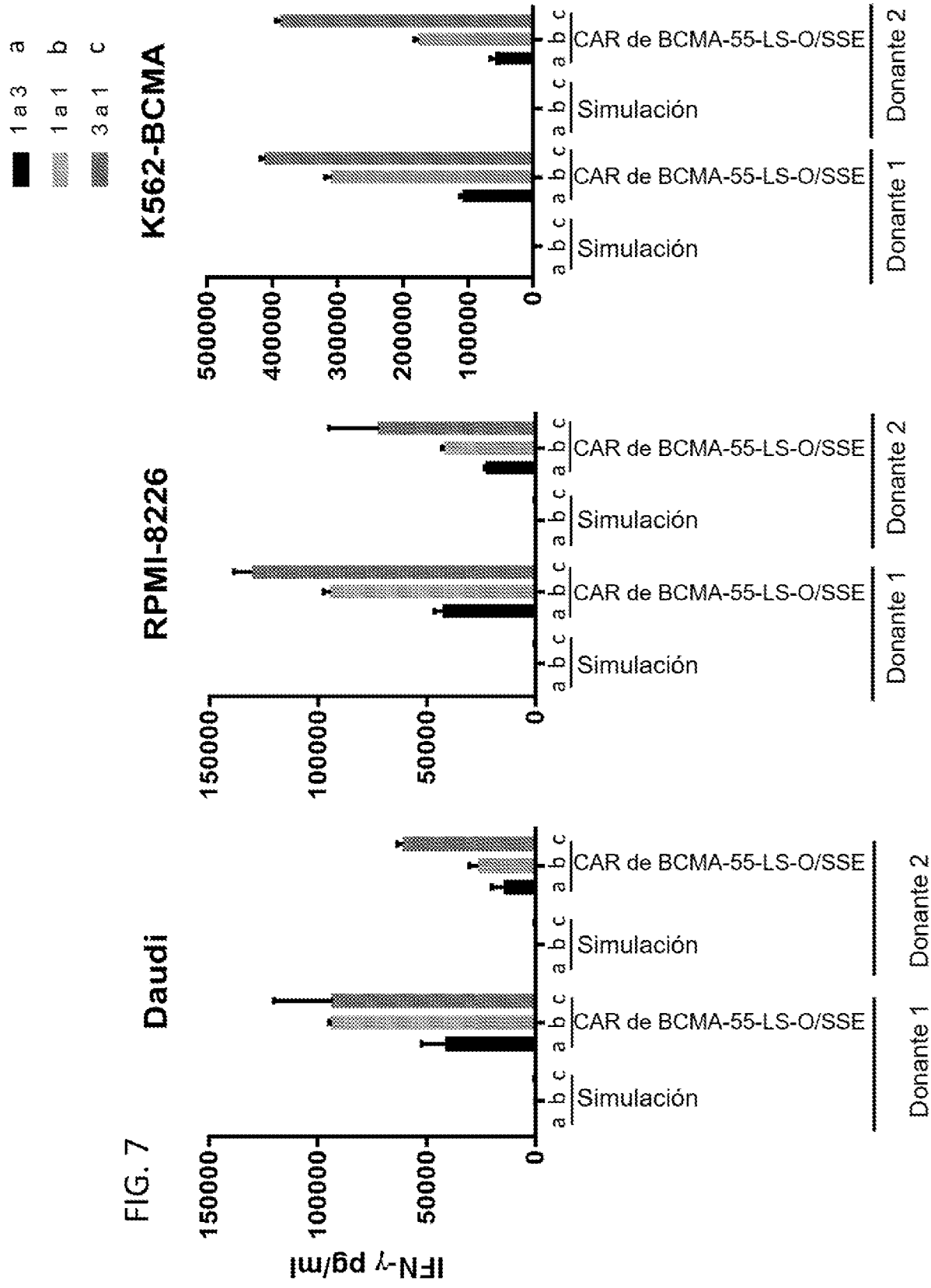

1 a 3 a
1 a 1 b
3 a 1 c
K562-BCMA
RPMI-8226
Daudi
IFN-γ pg/ml
500000
400000
300000
200000
100000
150000
50000
0
a b c
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE
Simulación
Donante 1
Donante 2

FIG. 7

FIG. 8

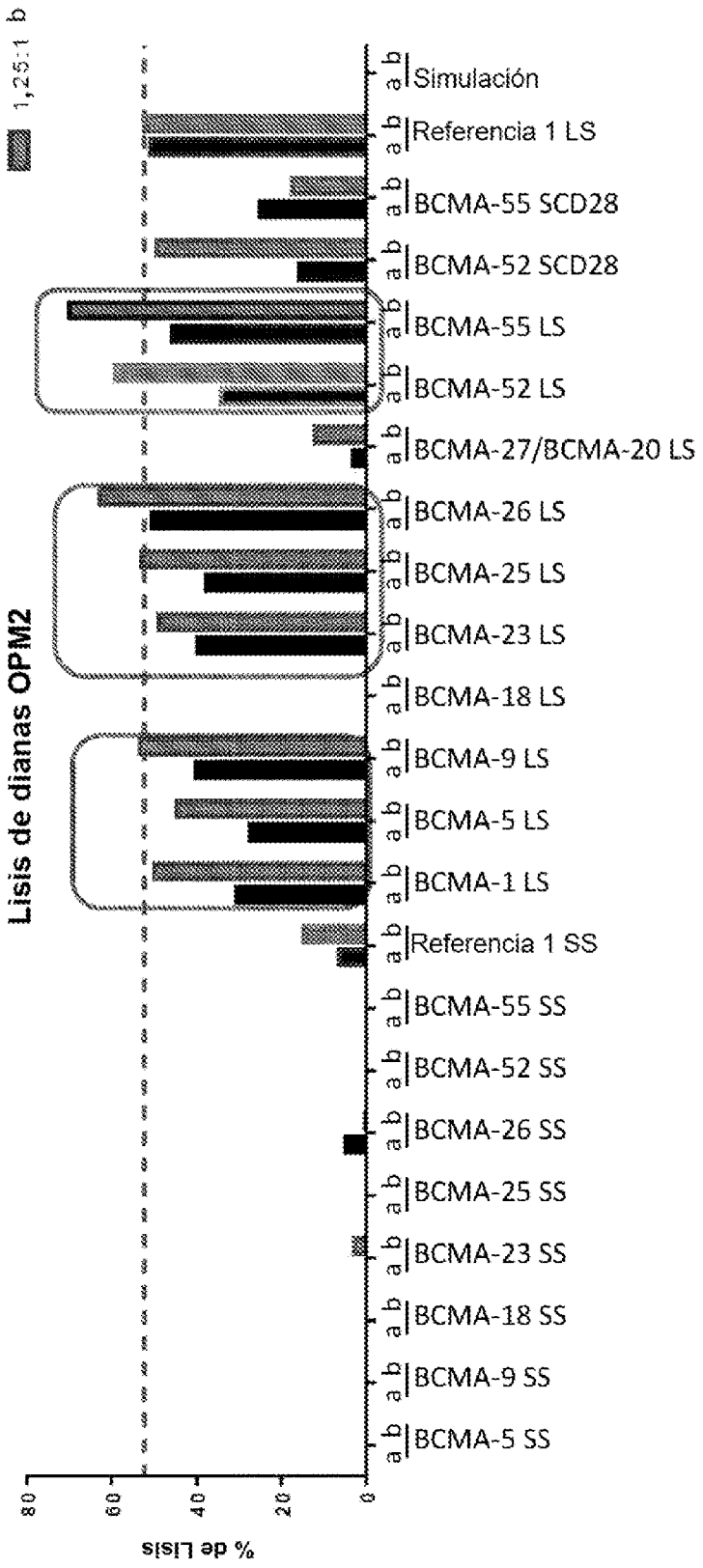

0,65:1 a
1,25:1 b
Lisis de dianas OPM2
% de Lisis
0
20
40
60
80
a b Simulación
a b Referencia 1 LS
a b BCMA-55 SCD28
a b BCMA-52 SCD28
a b BCMA-55 LS
a b BCMA-52 LS
a b BCMA-27/BCMA-20 LS
a b BCMA-26 LS
a b BCMA-25 LS
a b BCMA-23 LS
a b BCMA-18 LS
a b BCMA-9 LS
a b BCMA-5 LS
a b BCMA-1 LS
a b Referencia 1 SS
a b BCMA-55 SS
a b BCMA-52 SS
a b BCMA-26 SS
a b BCMA-25 SS
a b BCMA-23 SS
a b BCMA-18 SS
a b BCMA-9 SS
a b BCMA-5 SS

FIG. 9A

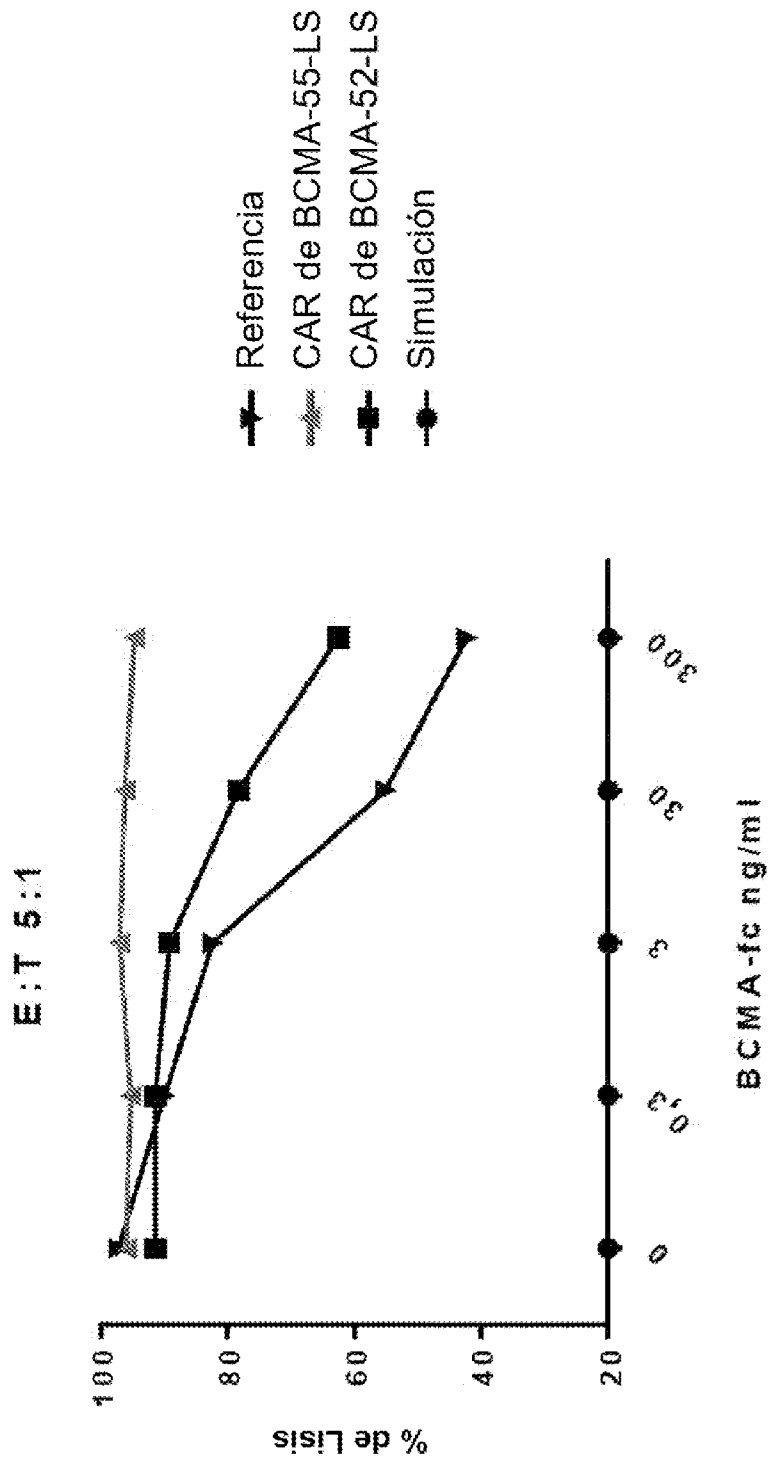
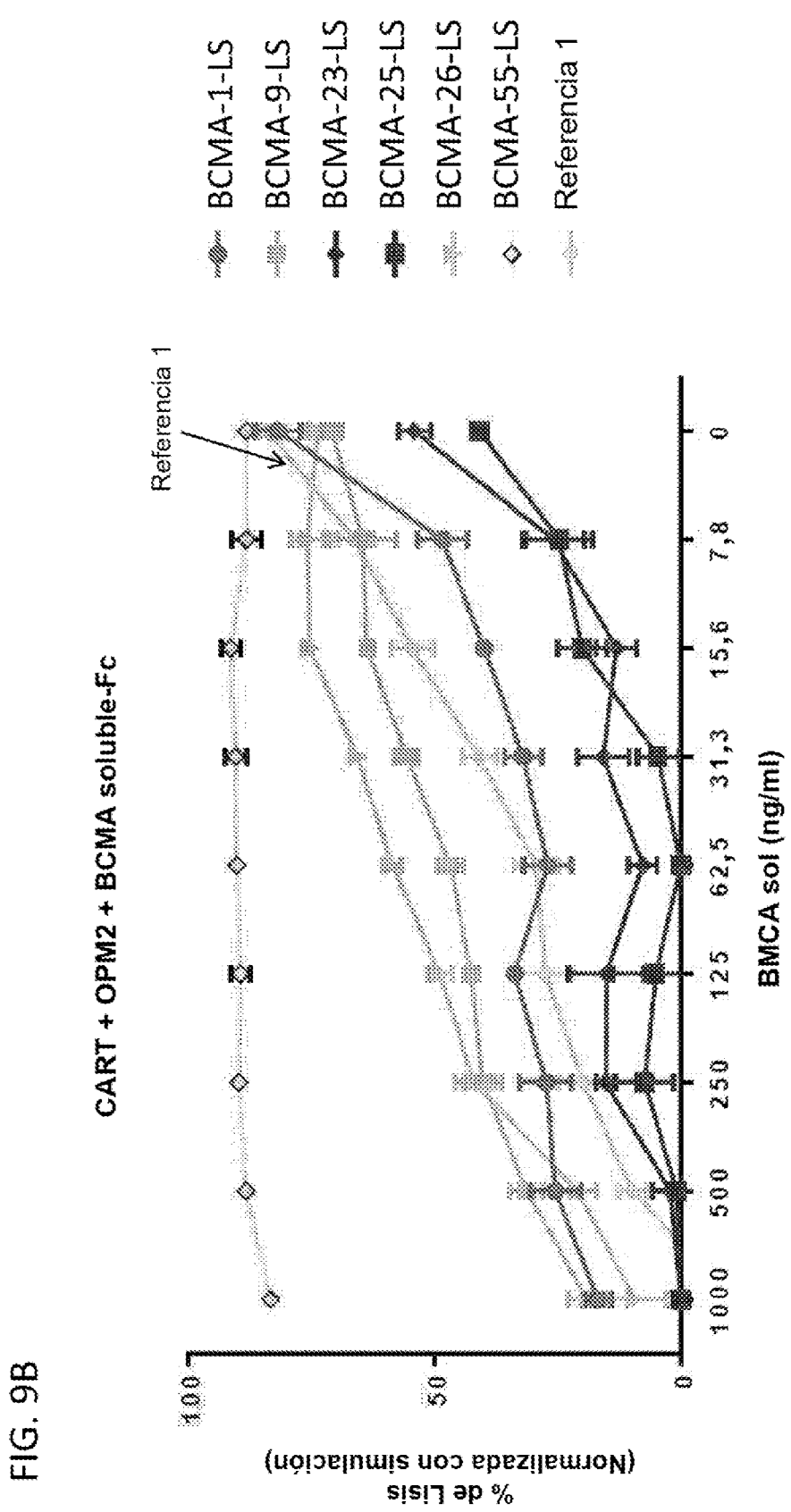

Referencia
CAR de BCMA-55-LS
CAR de BCMA-52-LS
Simulación
E:T 5:1
% de Lisis
100
80
60
40
20
0
0,3
3
30
300
BCMA-fc ng/ml

FIG. 9B


BCMA-1-LS
BCMA-9-LS
BCMA-23-LS
BCMA-25-LS
BCMA-26-LS
BCMA-55-LS
Referencia 1
CART + OPM2 + BCMA soluble-Fc
Referencia 1
% de Lisis
(Normalizada con simulación)
100
50
0
1000
500
250
125
62,5
31,3
15,6
7,8
0
BMCA sol (ng/ml)

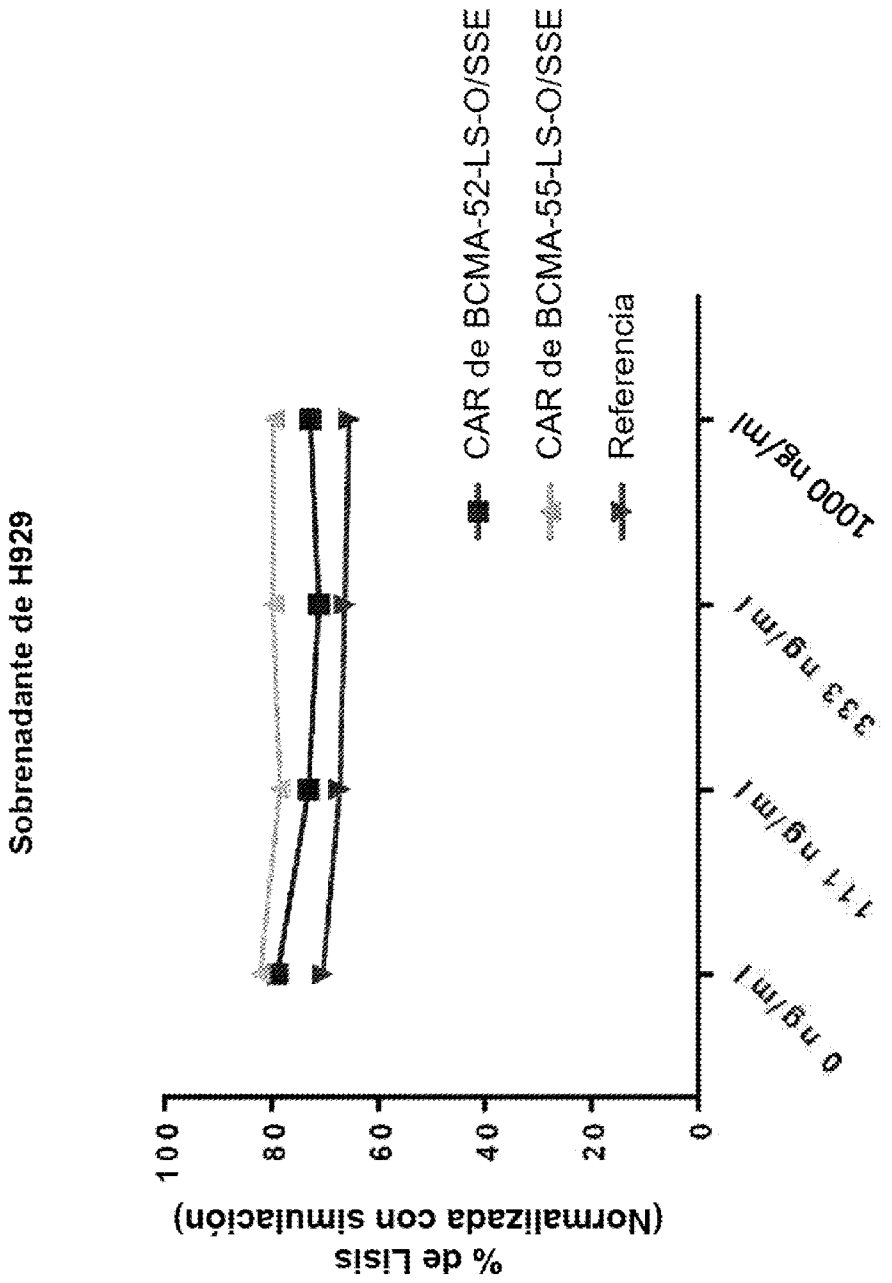

Sobrenadante de H929
% de Lisis
(Normalizada con simulación)
100
80
60
40
20
0
0 ng/ml
111 ng/ml
333 ng/ml
1000 ng/ml
CAR de BCMA-52-LS-O/SSE
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE
Referencia

FIG. 10A

FIG. 10B

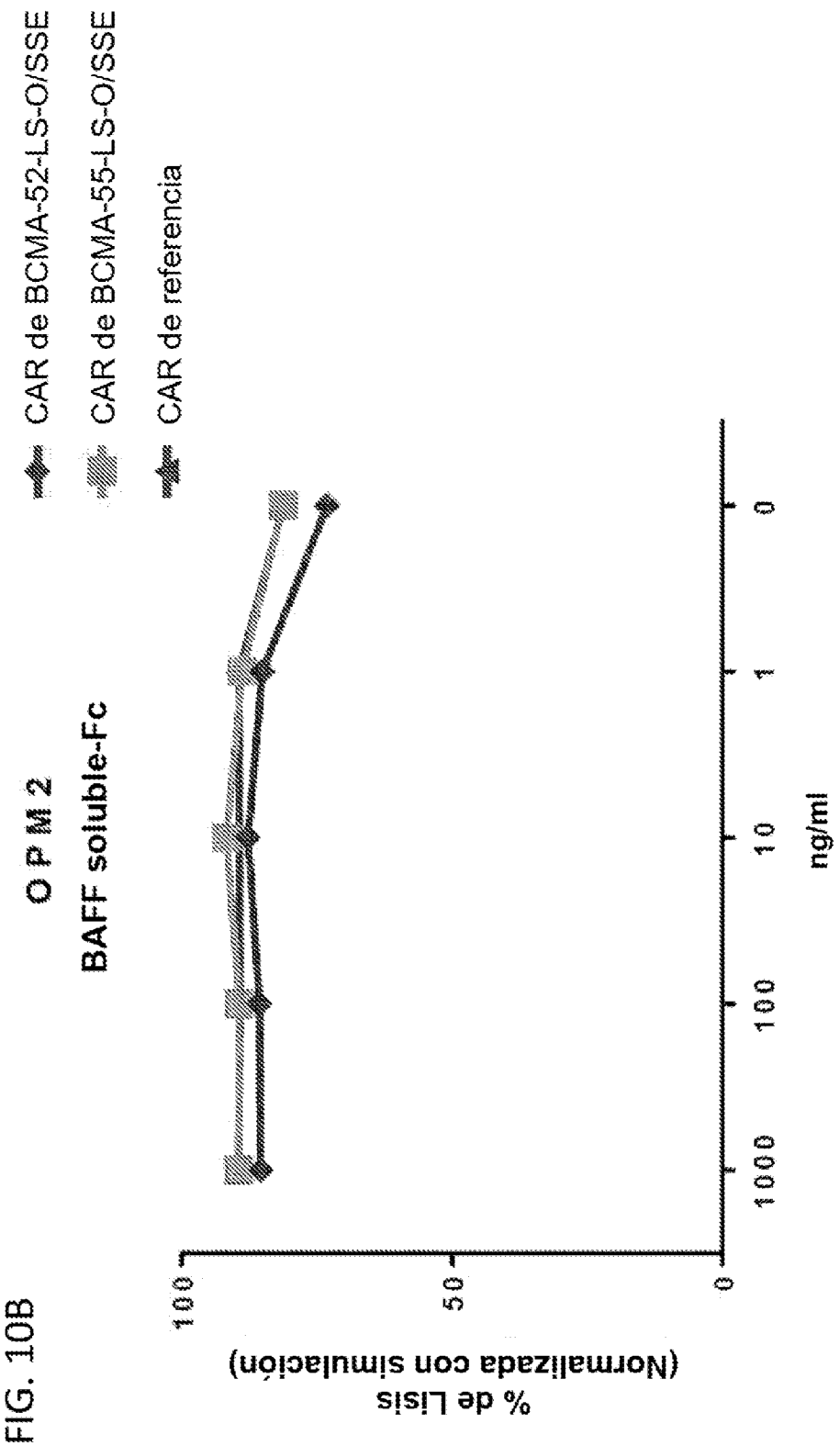

CAR de BCMA-52-LS-O/SSE
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE
CAR de referencia
OPM2
BAFF soluble-Fc
% de Lisis
(Normalizada con simulación)
100
50
0
1000
100
10
1
0
ng/ml

FIG. 11A

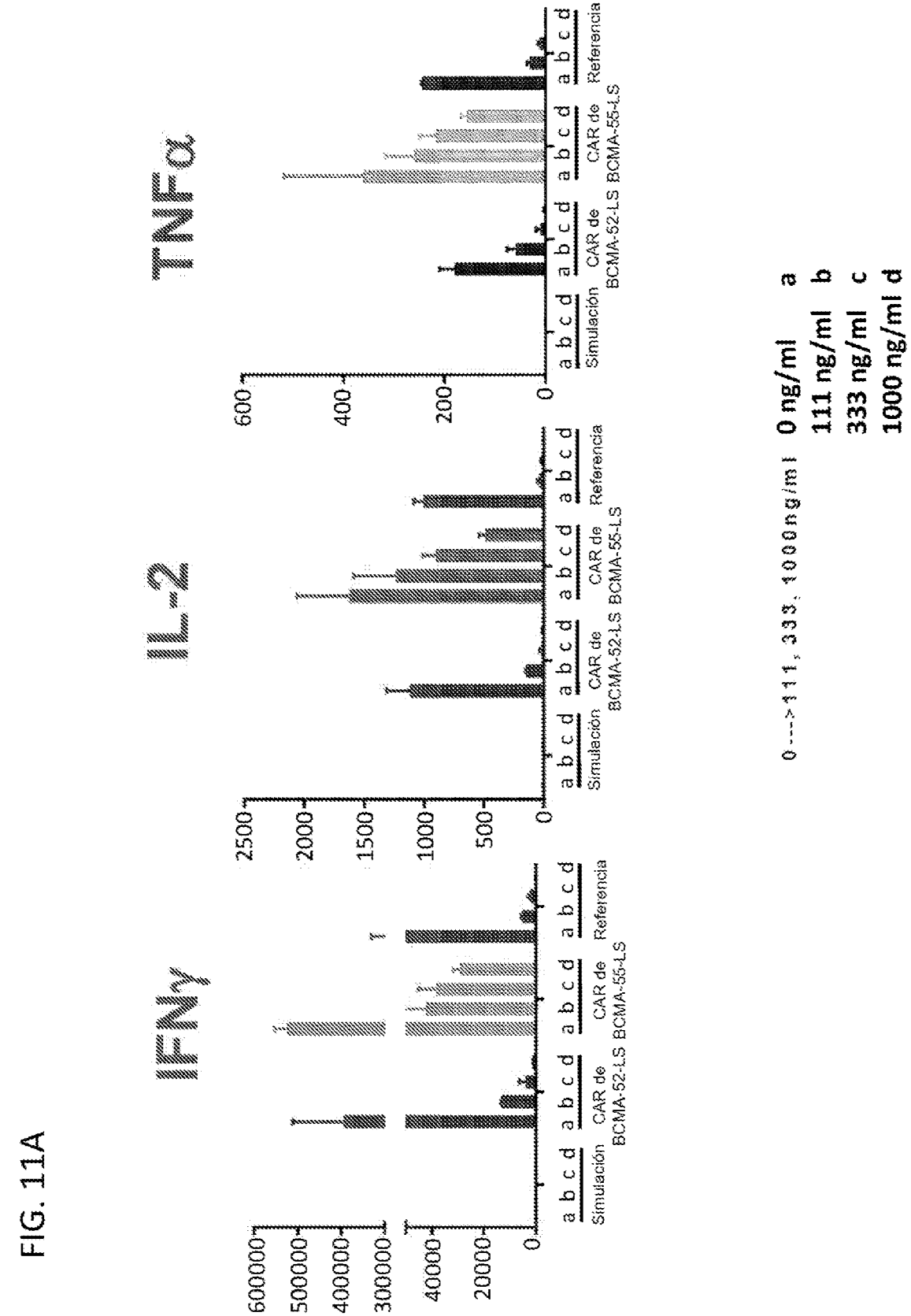

IFNγ
IL-2
TNFα
600000
500000
400000
300000
40000
20000
0
2500
2000
1500
1000
500
600
400
200
a b c d
Simulación
CAR de BCMA-52-LS
CAR de BCMA-55-LS
Referencia
0 ---> 111, 333, 1000 ng/ml
0 ng/ml a
111 ng/ml b
333 ng/ml c
1000 ng/ml d

FIG. 11B

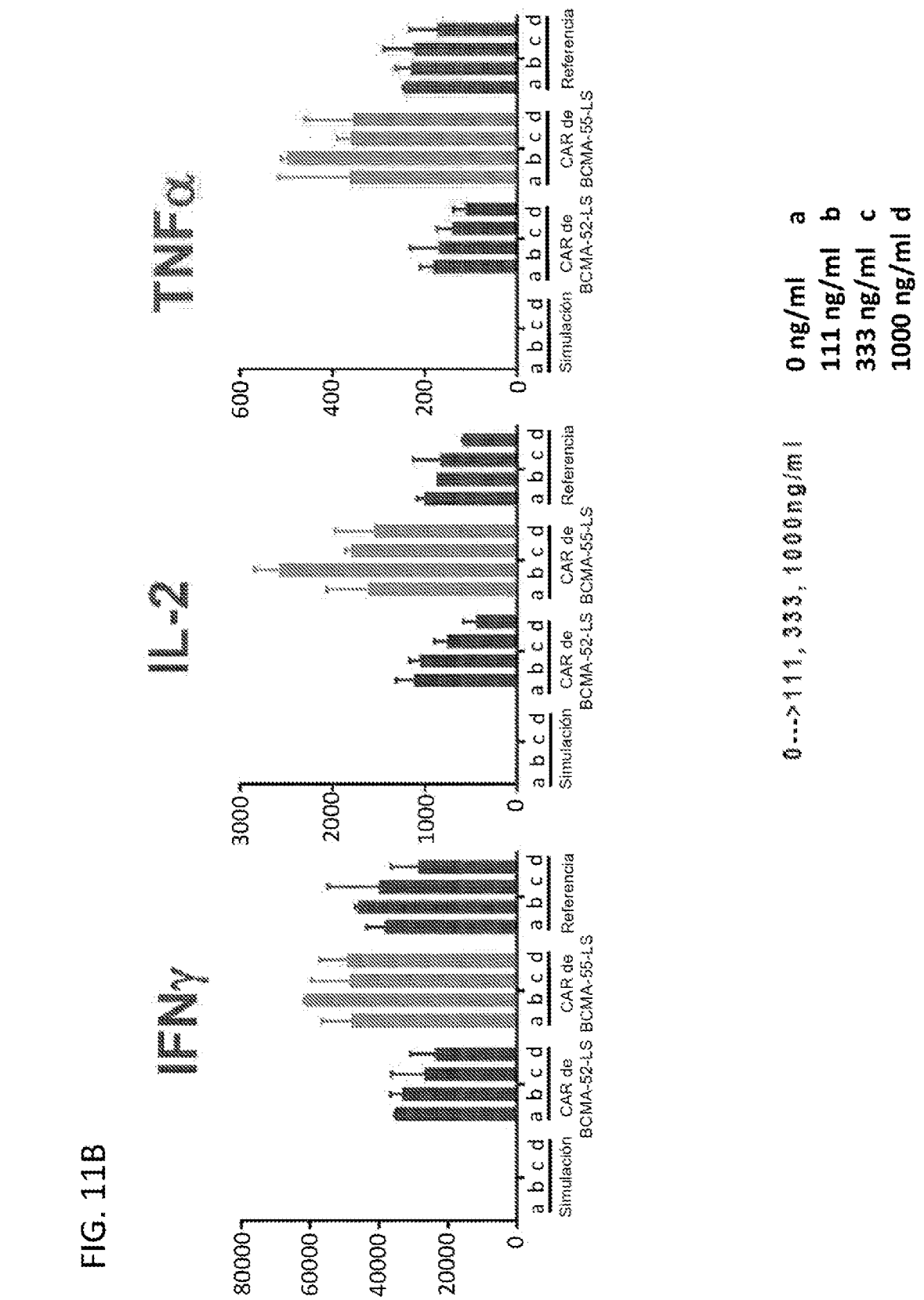

IFNγ
IL-2
TNFα
80000
60000
40000
20000
0
3000
2000
1000
0
600
400
200
0
a b c d
Simulación
CAR de BCMA-52-LS
CAR de BCMA-55-LS
Referencia
0--->111, 333, 1000ng/ml
0 ng/ml a
111 ng/ml b
333 ng/ml c
1000 ng/ml d

FIG. 12A

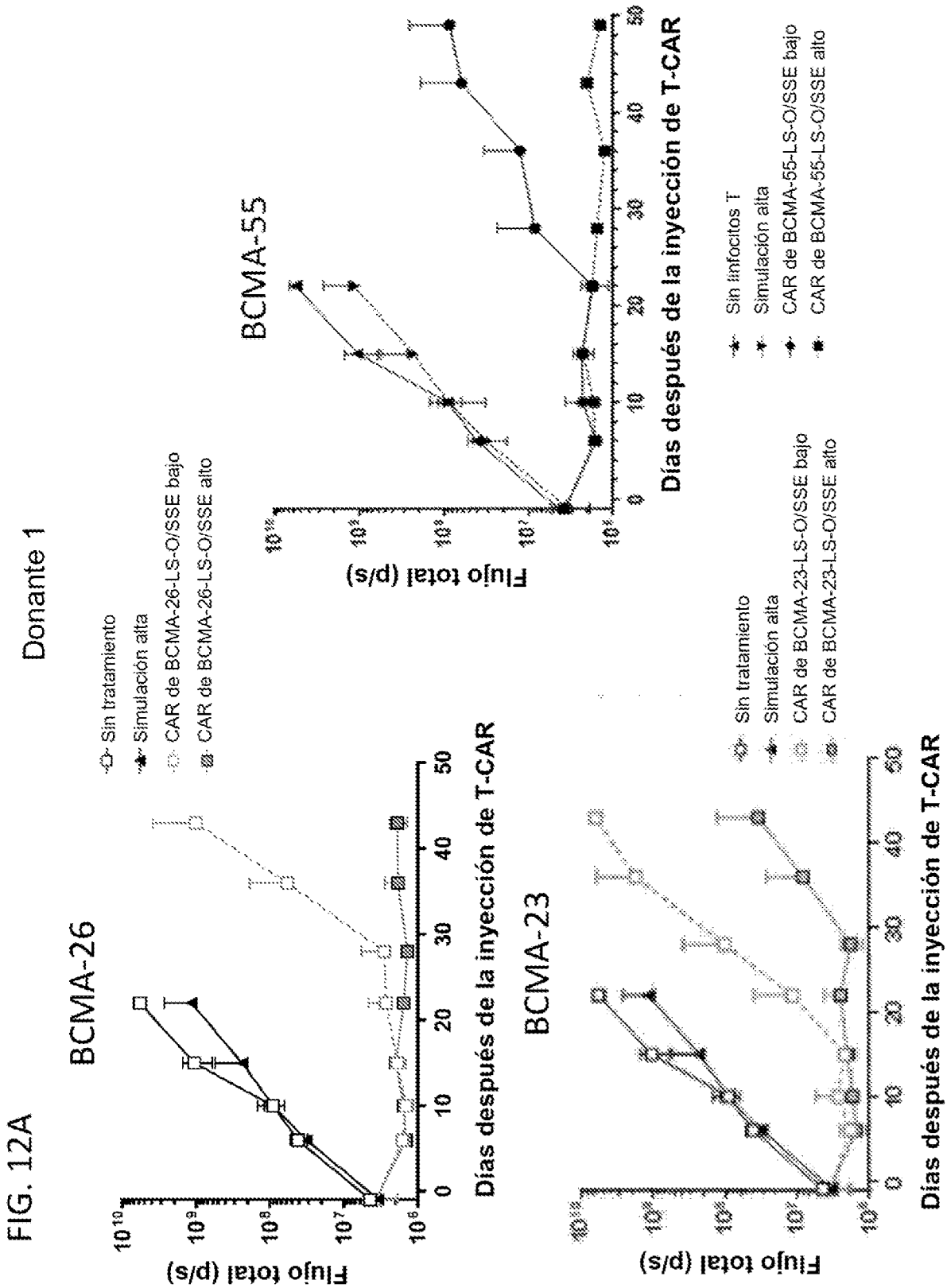

Donante 1
BCMA-26
BCMA-55
BCMA-23
Sin tratamiento
Simulación alta
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
Sin linfocitos T
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
Flujo total (p/s)
Días después de la inyección de T-CAR

FIG. 12B

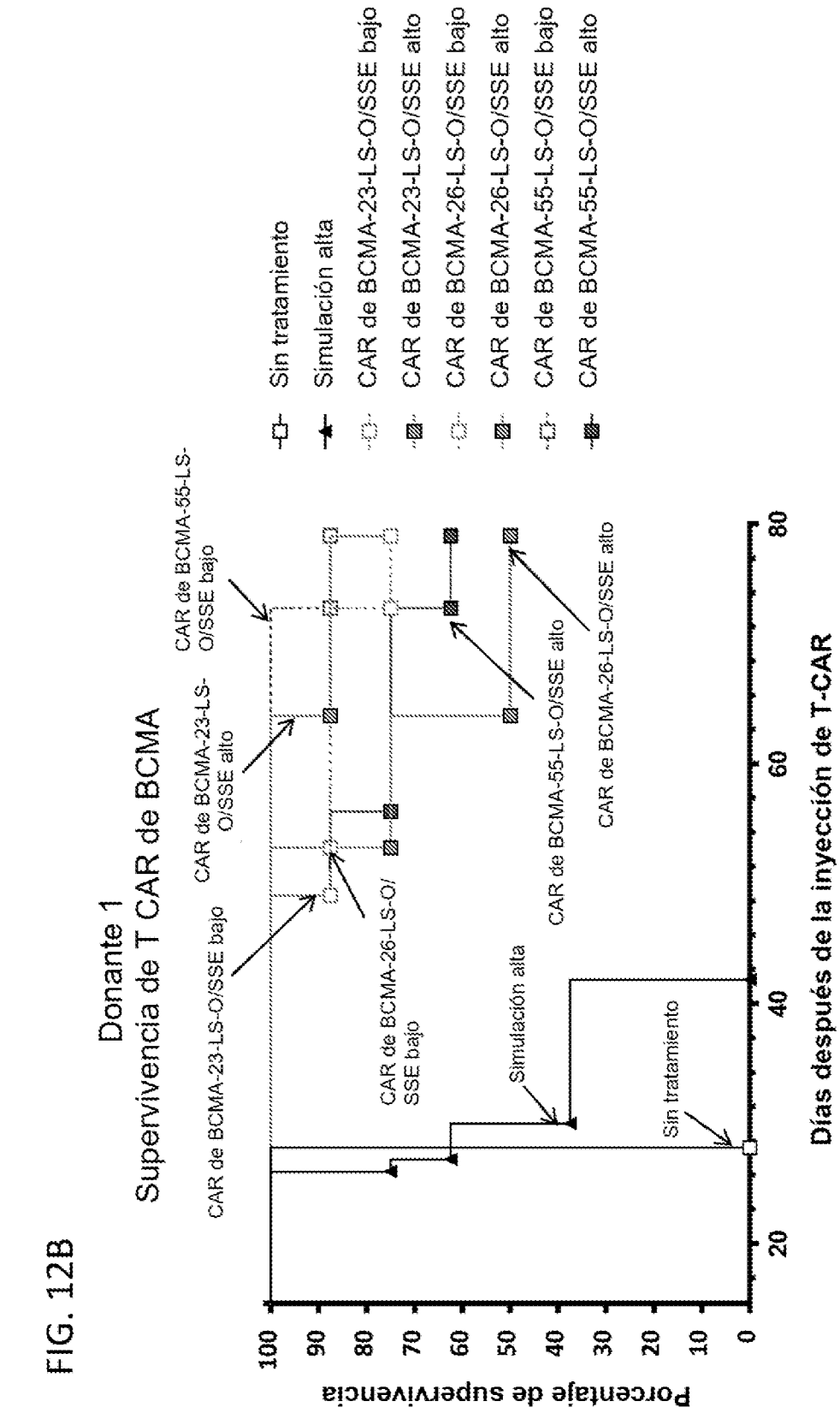

Donante 1
Supervivencia de T CAR de BCMA
Porcentaje de supervivencia
Días después de la inyección de T-CAR
Sin tratamiento
Simulación alta
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
Simulación alta
Sin tratamiento

FIG. 13A

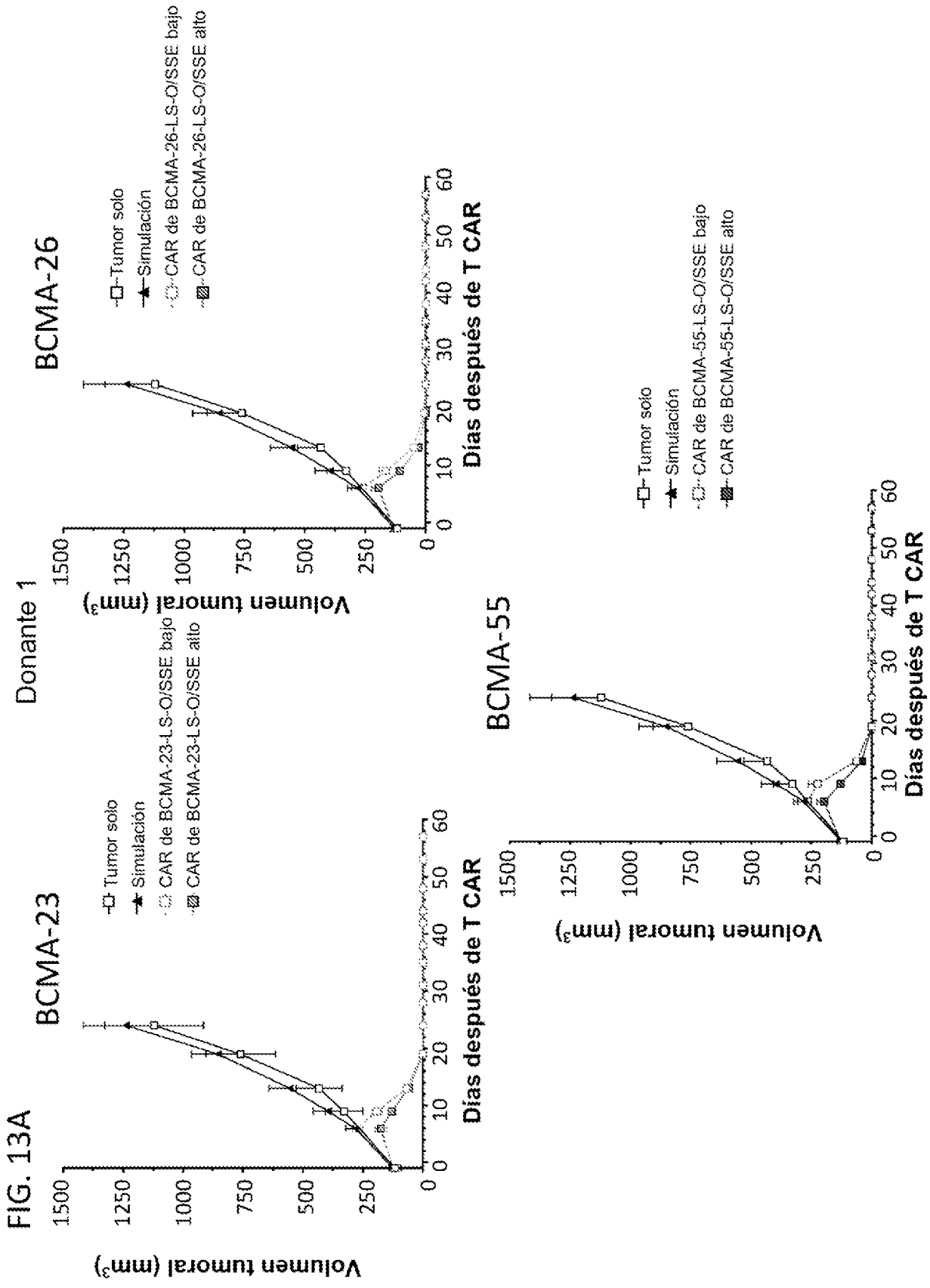

Donante 1
BCMA-23
BCMA-26
BCMA-55
Tumor solo
Simulación
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE alto
Volumen tumoral (mm³)
Días después de T CAR
0
250
500
750
1000
1250
1500
0
10
20
30
40
50
60

FIG. 13B

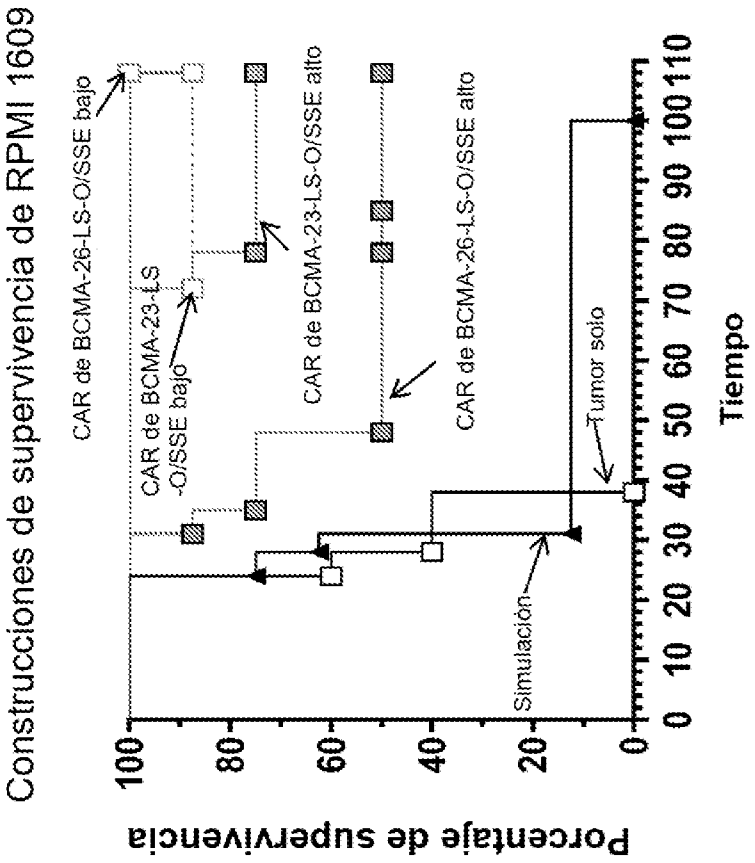

Donante 1
Construcciones de supervivencia de RPMI 1609
Tumor solo
Simulación
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE alto
Porcentaje de supervivencia
100
80
60
40
20
0
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110
Tiempo
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS -O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
Tumor solo
Simulación

FIG. 14A

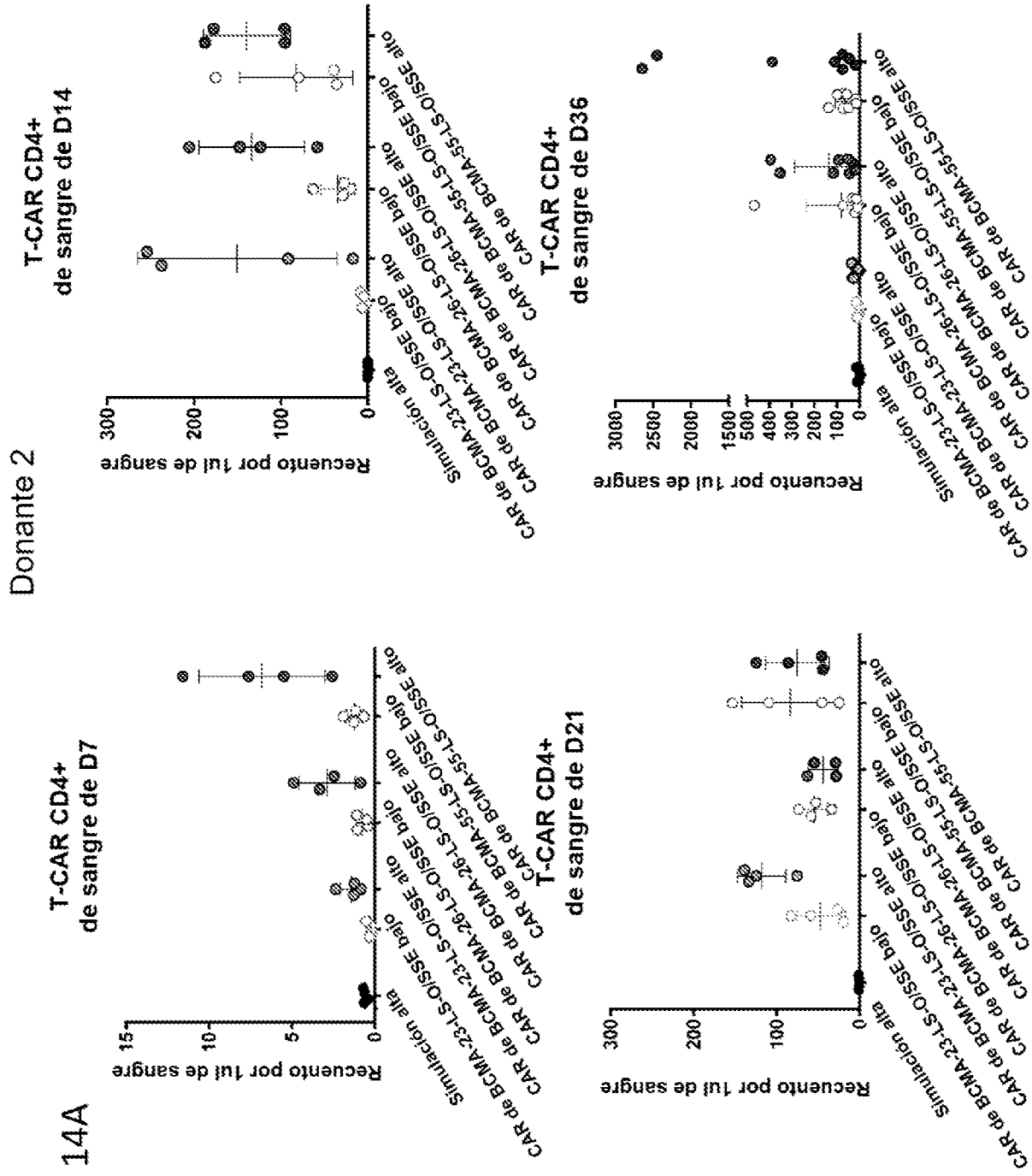

Donante 2
T-CAR CD4+ de sangre de D7
T-CAR CD4+ de sangre de D14
T-CAR CD4+ de sangre de D21
T-CAR CD4+ de sangre de D36
Recuento por 1ul de sangre
Simulación alta
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE alto

FIG. 14B

Donante 2

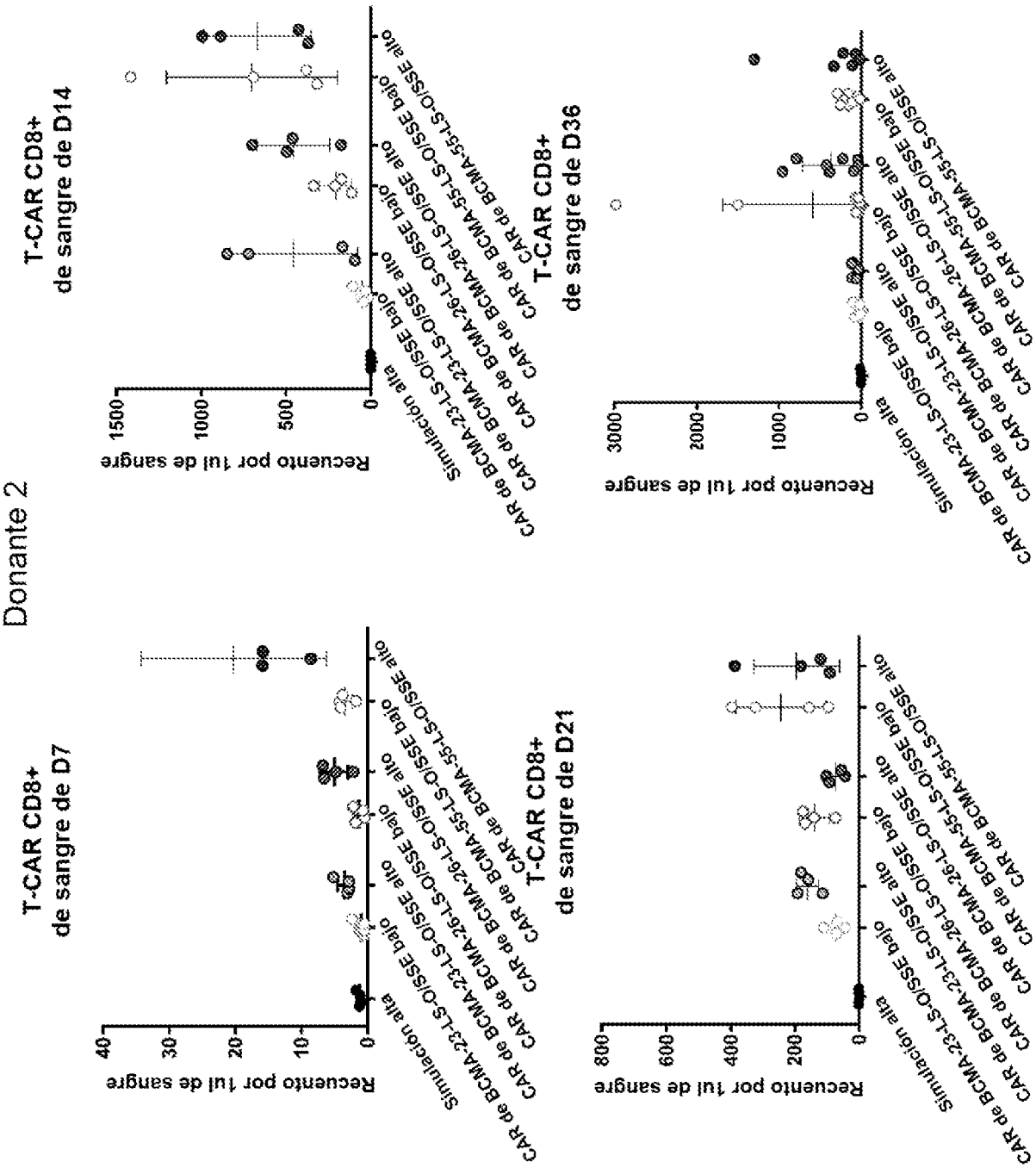


FIG. 15A

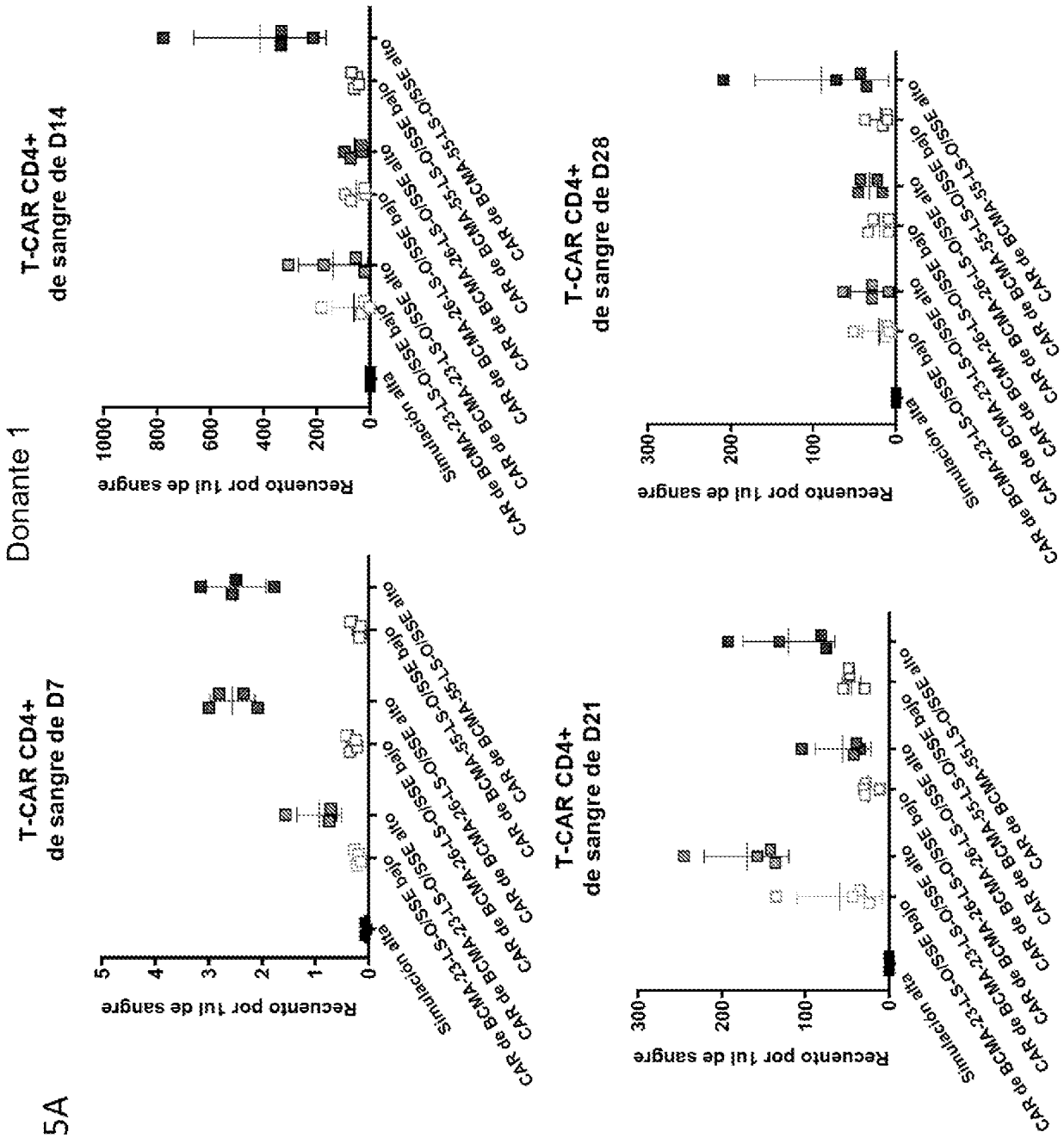
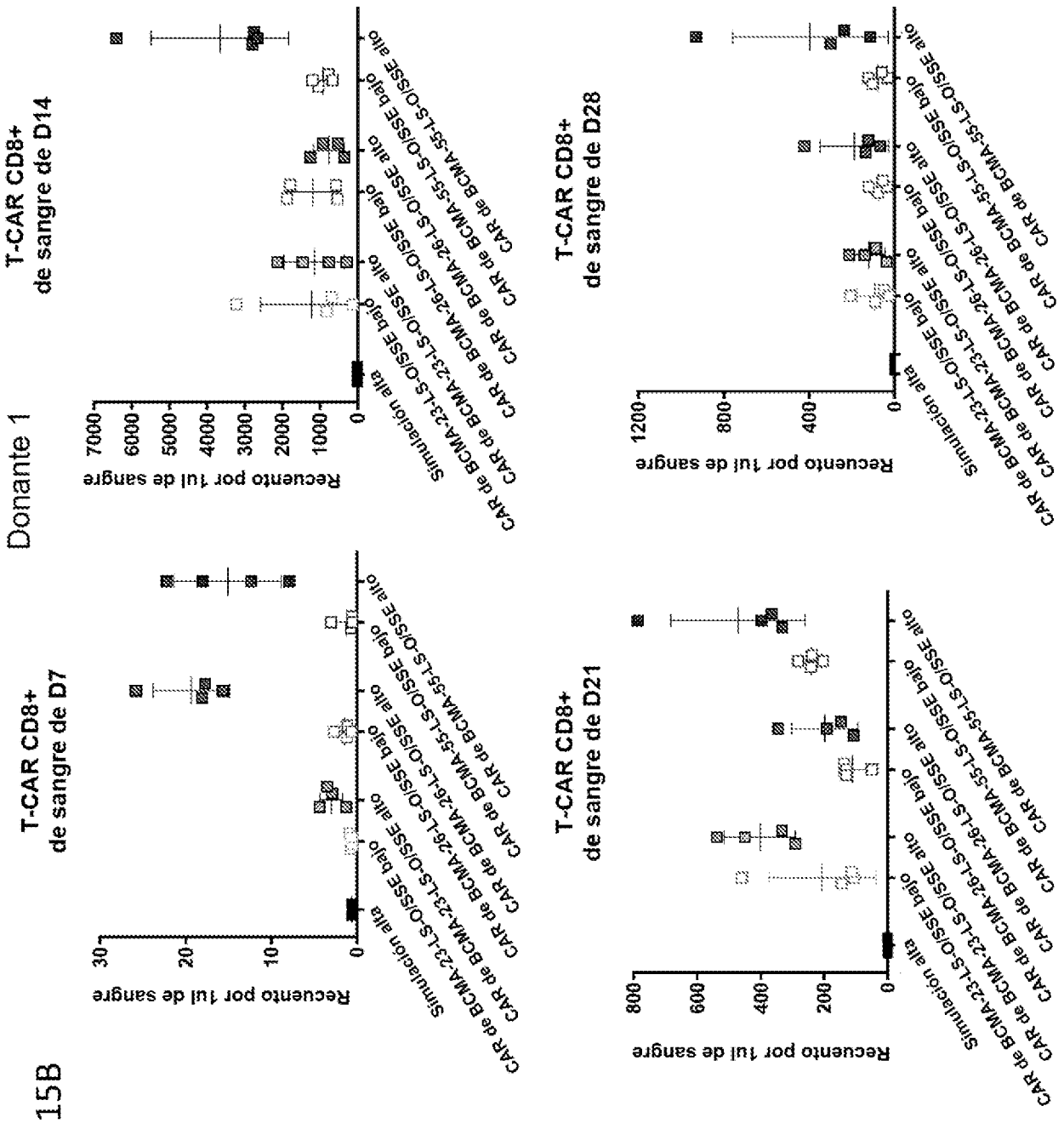

Donante 1
T-CAR CD4+ de sangre de D14
T-CAR CD4+ de sangre de D7
T-CAR CD4+ de sangre de D28
T-CAR CD4+ de sangre de D21
Recuento por 1ul de sangre
Simulación alta
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE alto

FIG. 15B


Donante 1
T-CAR CD8+ de sangre de D14
T-CAR CD8+ de sangre de D7
T-CAR CD8+ de sangre de D28
T-CAR CD8+ de sangre de D21
Recuento por 1ul de sangre
Simulación alta
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE alto
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE bajo
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE alto

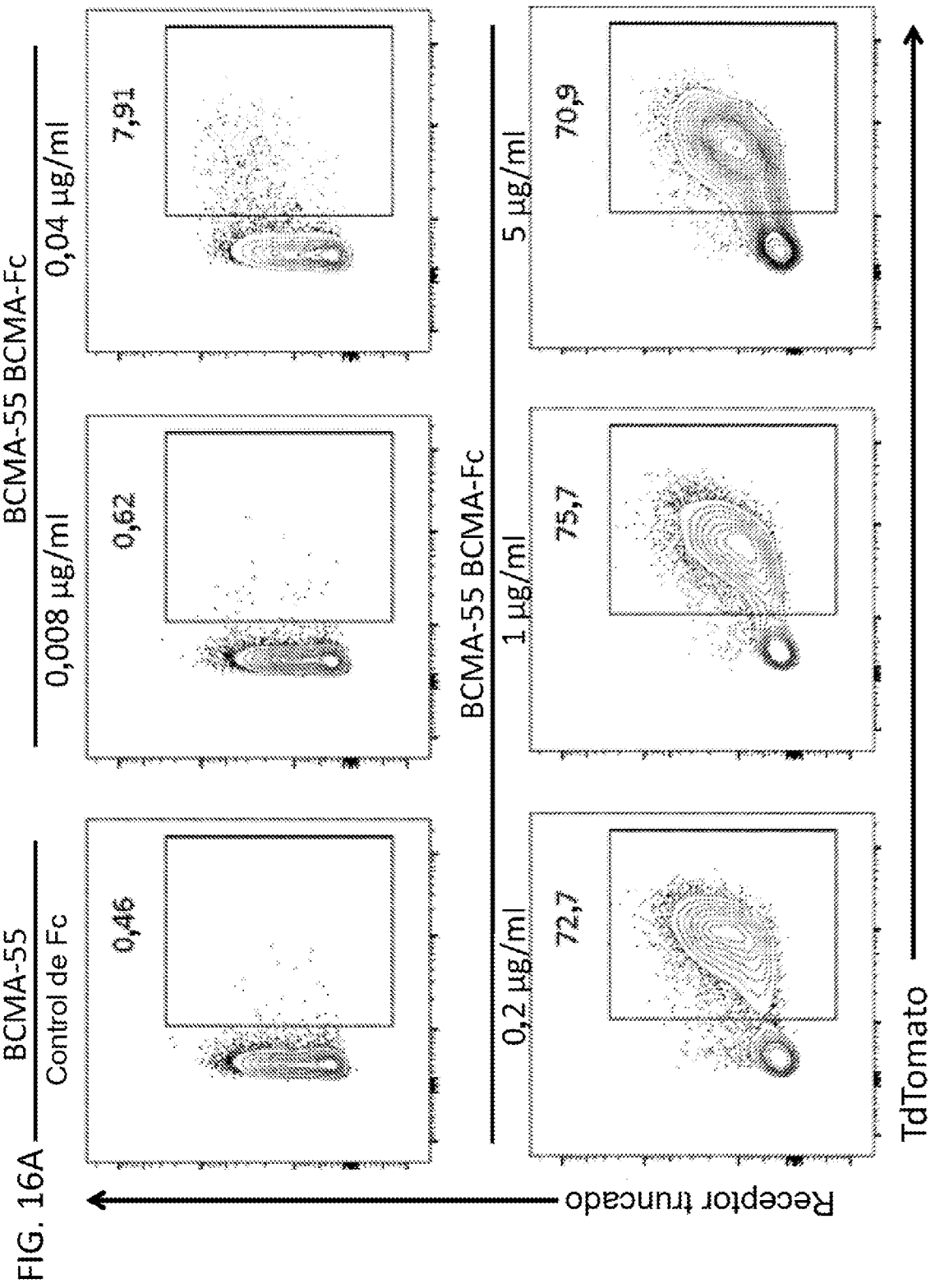

BCMA-55
Control de Fc
0,46
BCMA-55 BCMA-Fc
0,008 µg/ml
0,62
0,04 µg/ml
7,91
BCMA-55 BCMA-Fc
0,2 µg/ml
72,7
1 µg/ml
75,7
5 µg/ml
70,9
Receptor truncado
TdTomato

FIG. 16A

FIG. 16B

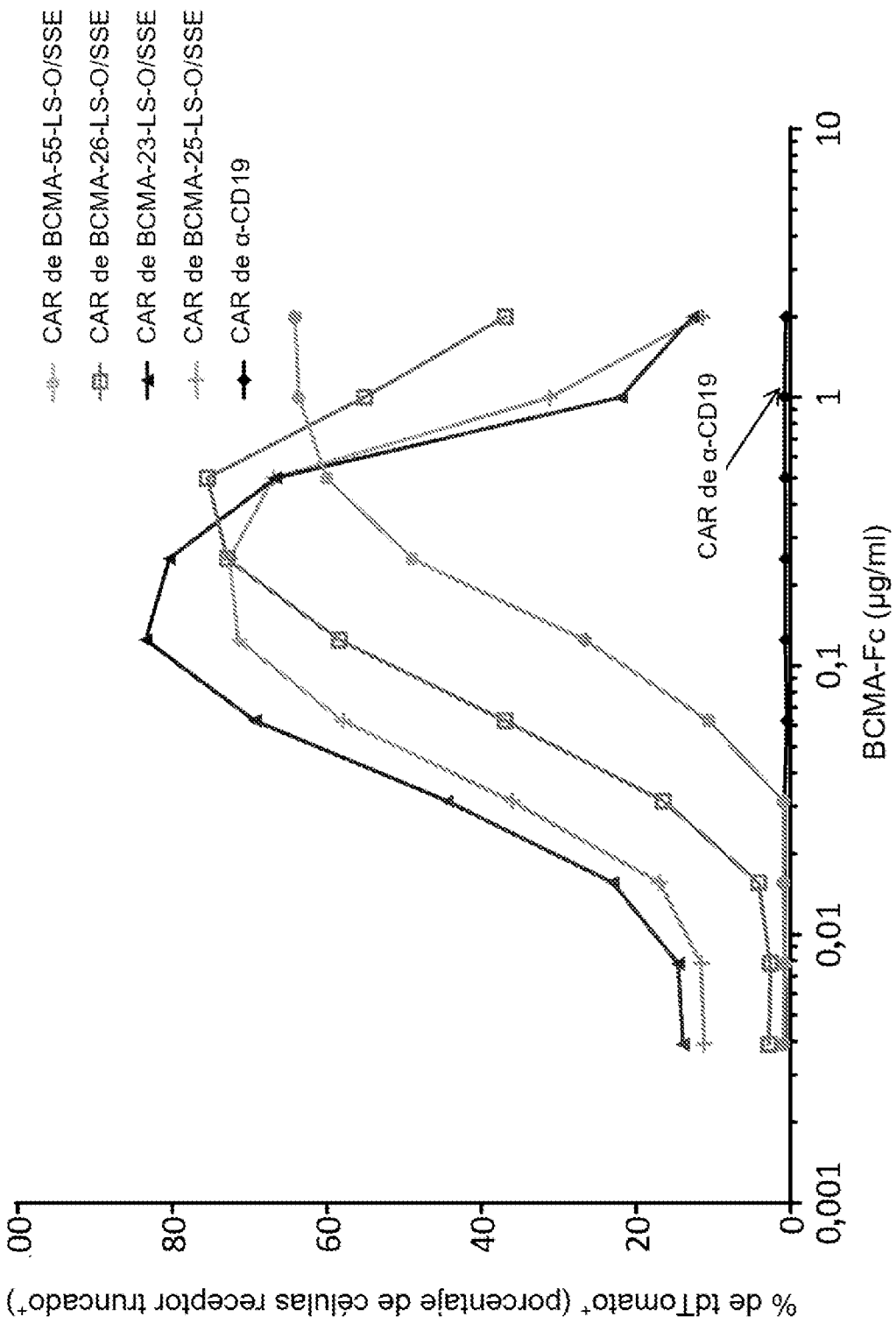

CAR de BCMA-55-LS-O/SSE
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE
CAR de BCMA-25-LS-O/SSE
CAR de α-CD19
CAR de α-CD19
% de tdTomato+ (porcentaje de células receptor truncado+)
0
20
40
60
80
100
0,001
0,01
0,1
1
10
BCMA-Fc (µg/ml)

FIG. 17 Cocultivo de células indicadoras Nur77-tdTomato que expresan CAR anti-BCMA con células diana BCMA.K562

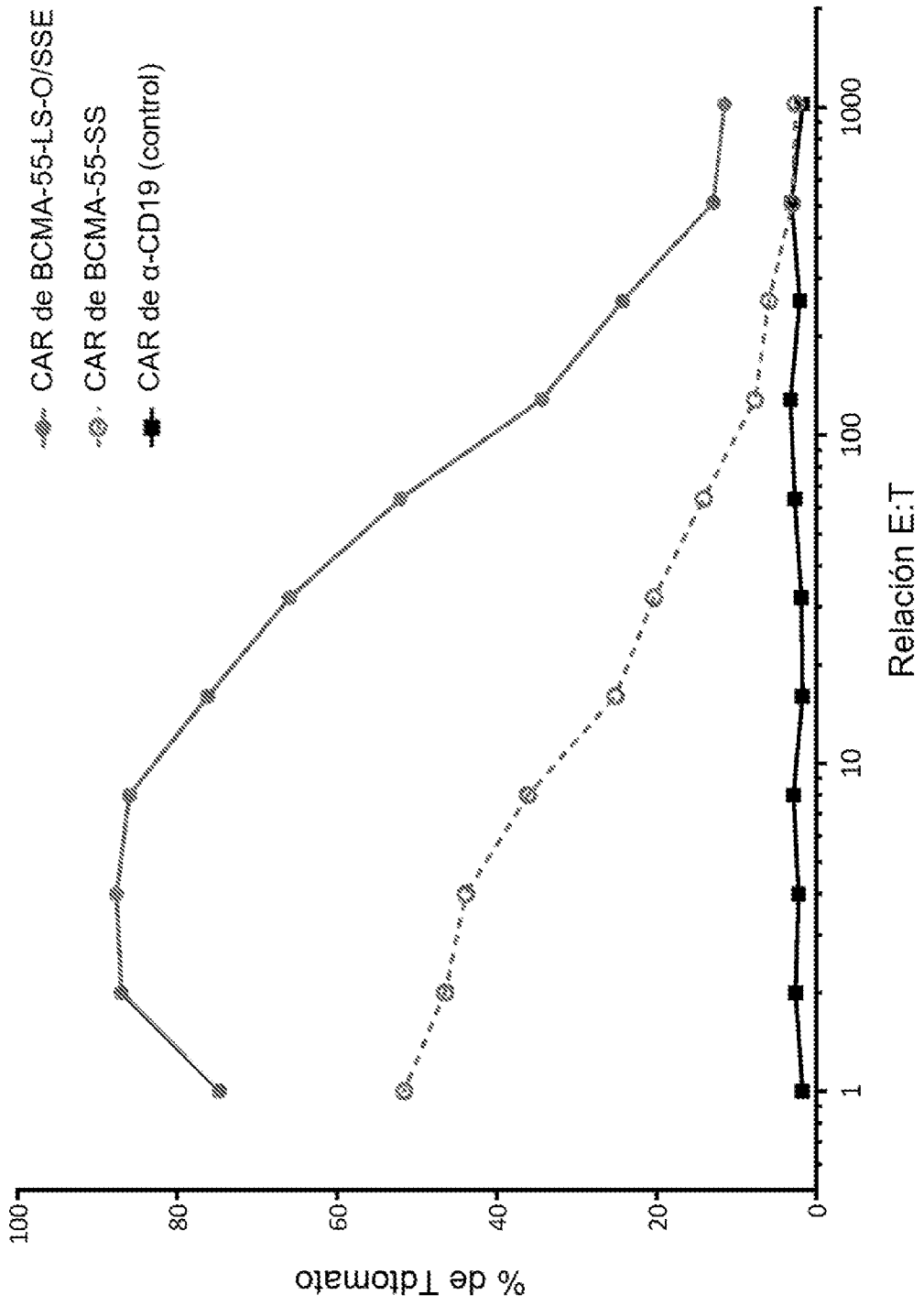
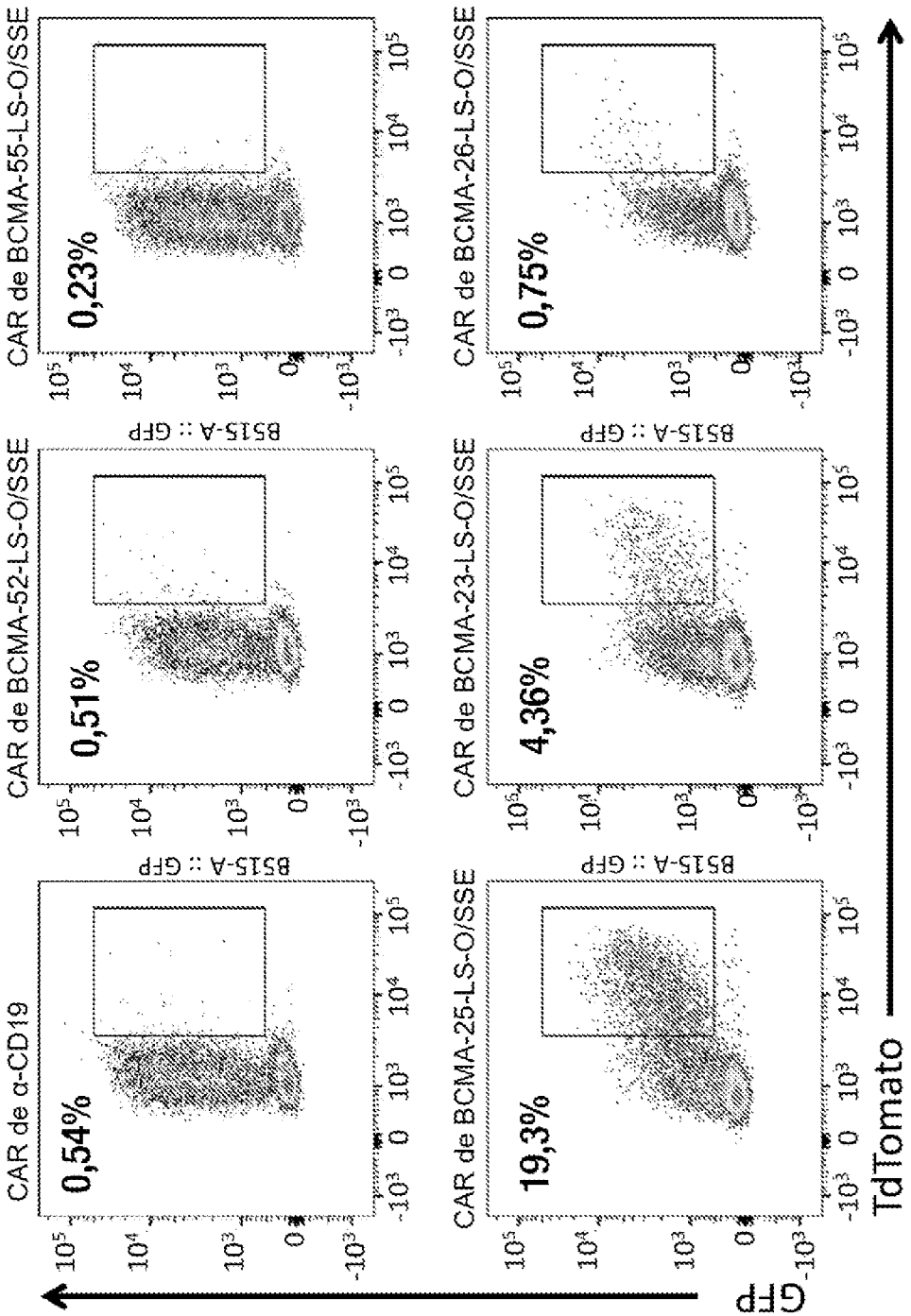


FIG. 18


CAR de α-CD19
0,54%
CAR de BCMA-52-LS-O/SSE
0,51%
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE
0,23%
CAR de BCMA-25-LS-O/SSE
19,3%
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE
4,36%
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE
0,75%
B515-A :: GFP
GFP
TdTomato

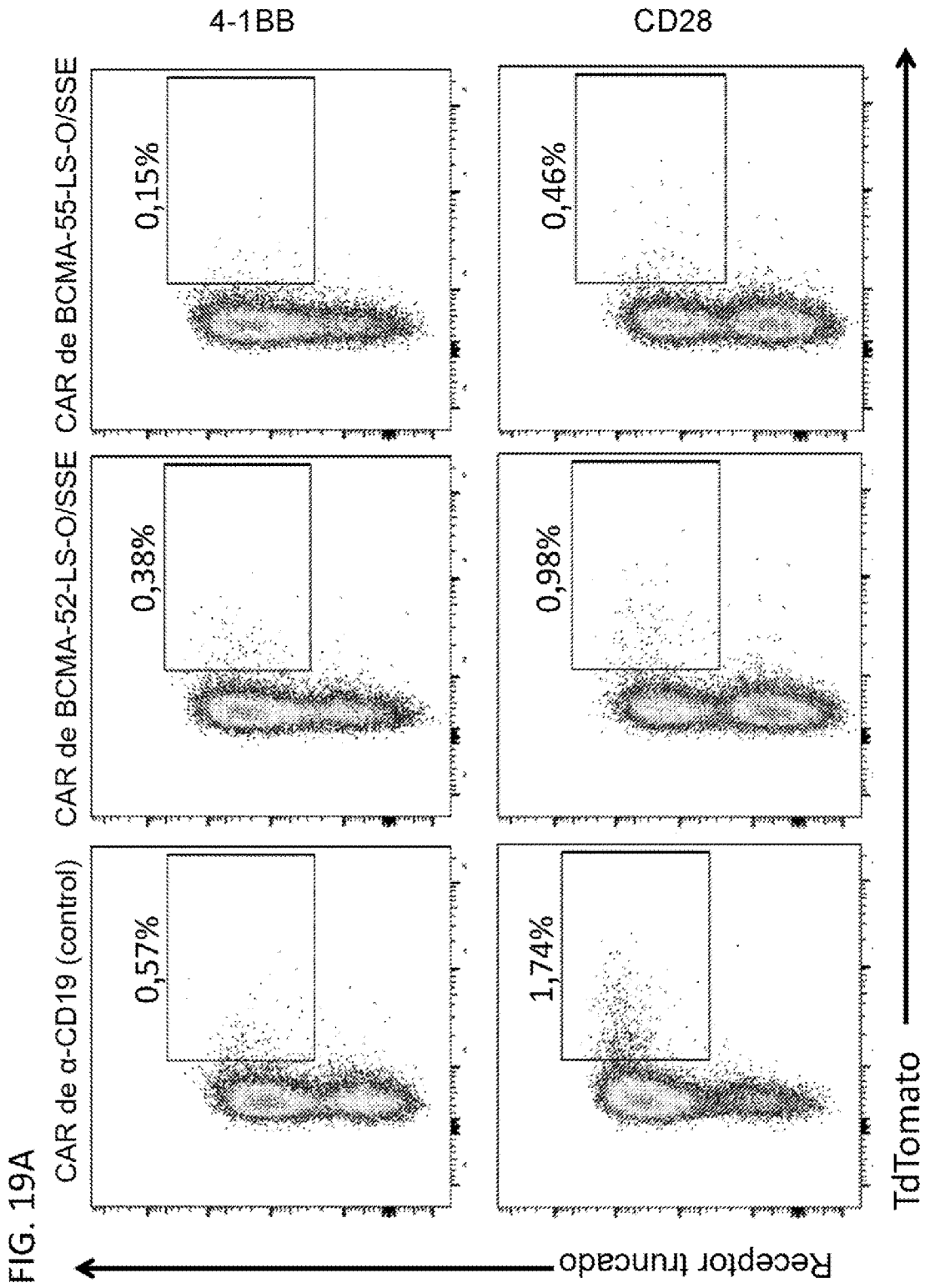

4-1BB
CD28
CAR de BCMA-55-LS-O/SSE
CAR de BCMA-52-LS-O/SSE
CAR de α-CD19 (control)
0,15%
0,46%
0,38%
0,98%
0,57%
1,74%
Receptor truncado
TdTomato

FIG. 19A

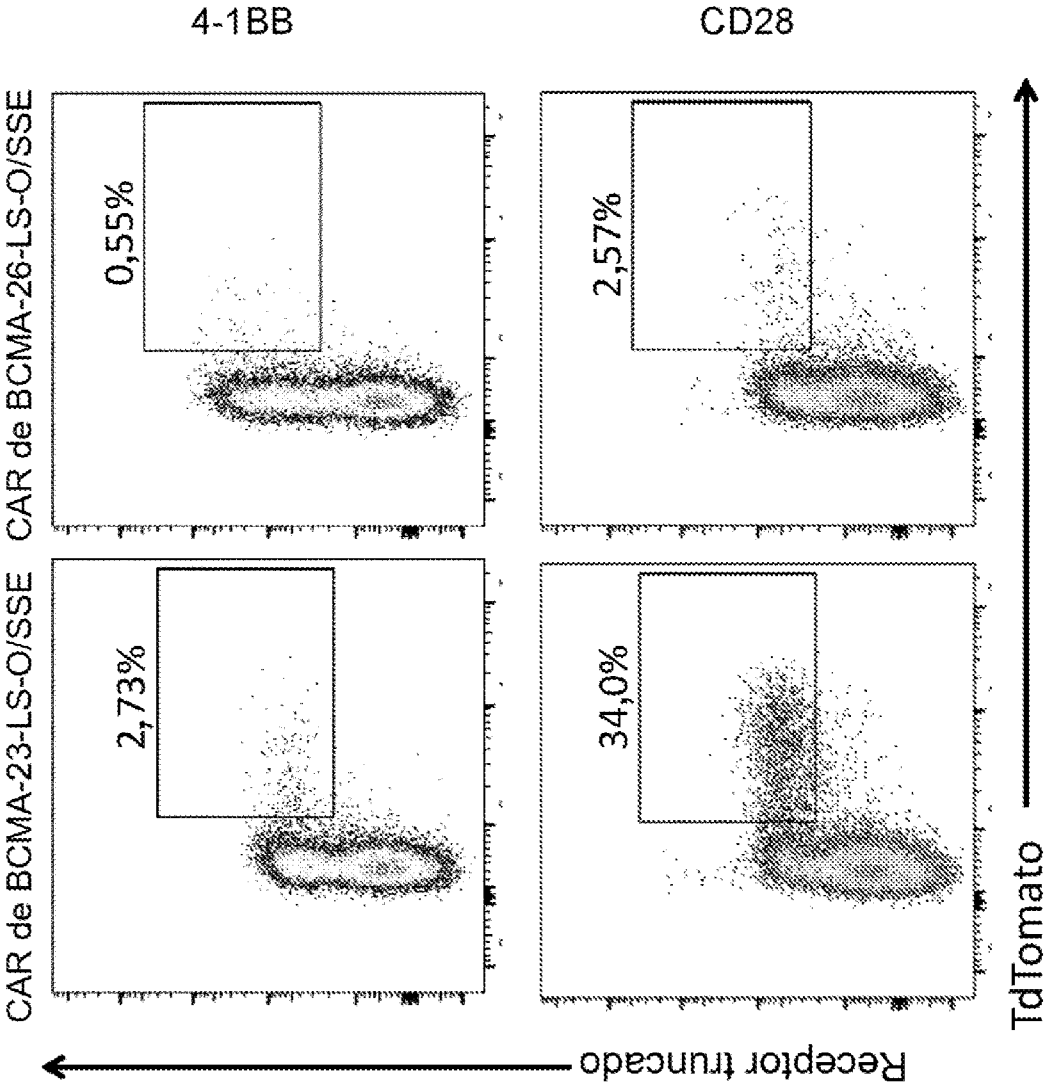

4-1BB
CD28
CAR de BCMA-26-LS-O/SSE
CAR de BCMA-23-LS-O/SSE
0,55%
2,57%
2,73%
34,0%
Receptor truncado
TdTomato

FIG. 19B

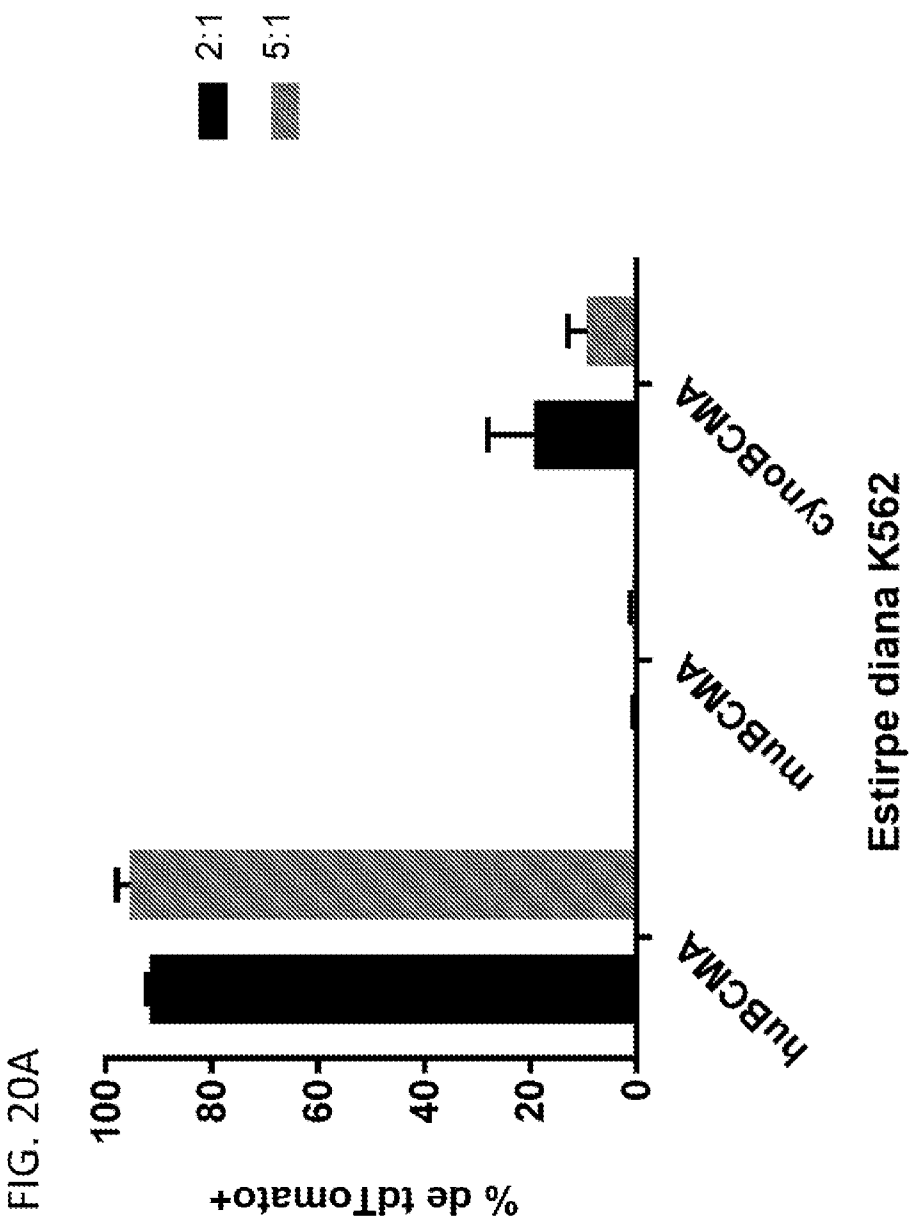

2:1
5:1
% de tdTomato+
100
80
60
40
20
0
huBCMA
muBCMA
cynoBCMA
Estirpe diana K562

FIG. 20A

FIG. 20C

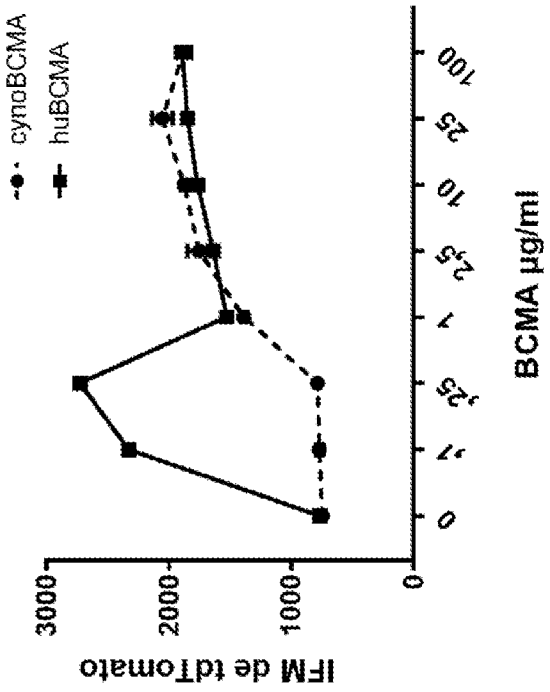


FIG. 20B

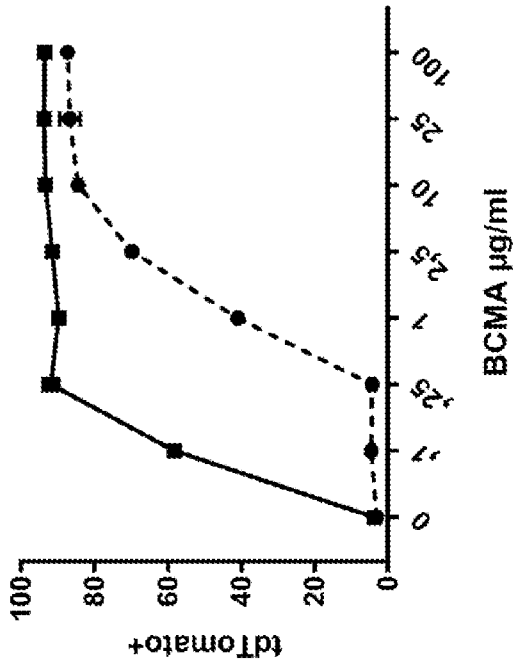


FIG. 21A

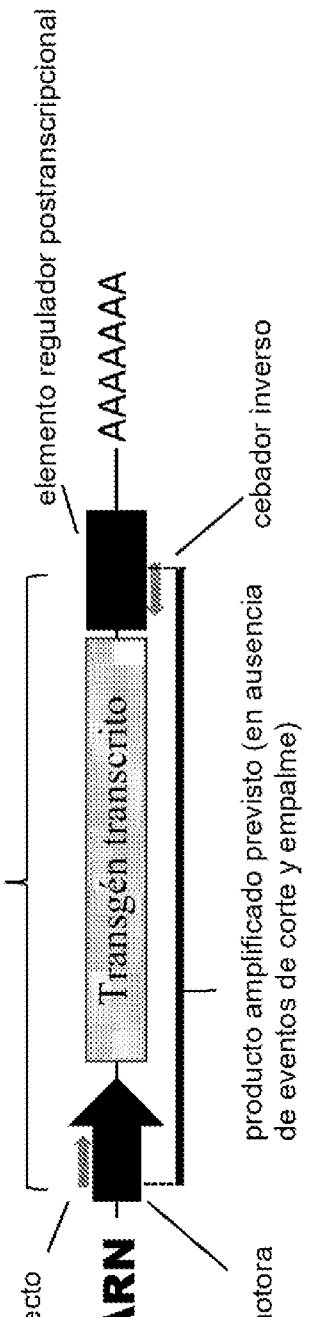


FIG. 21B

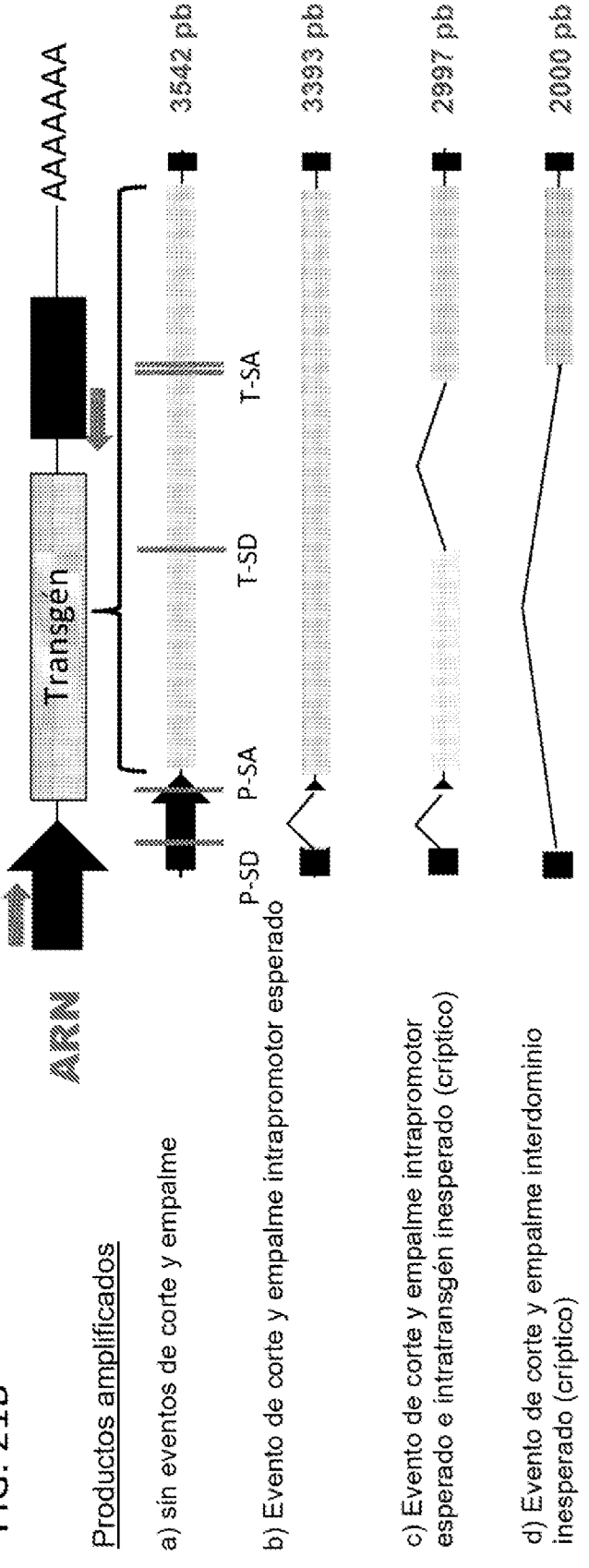
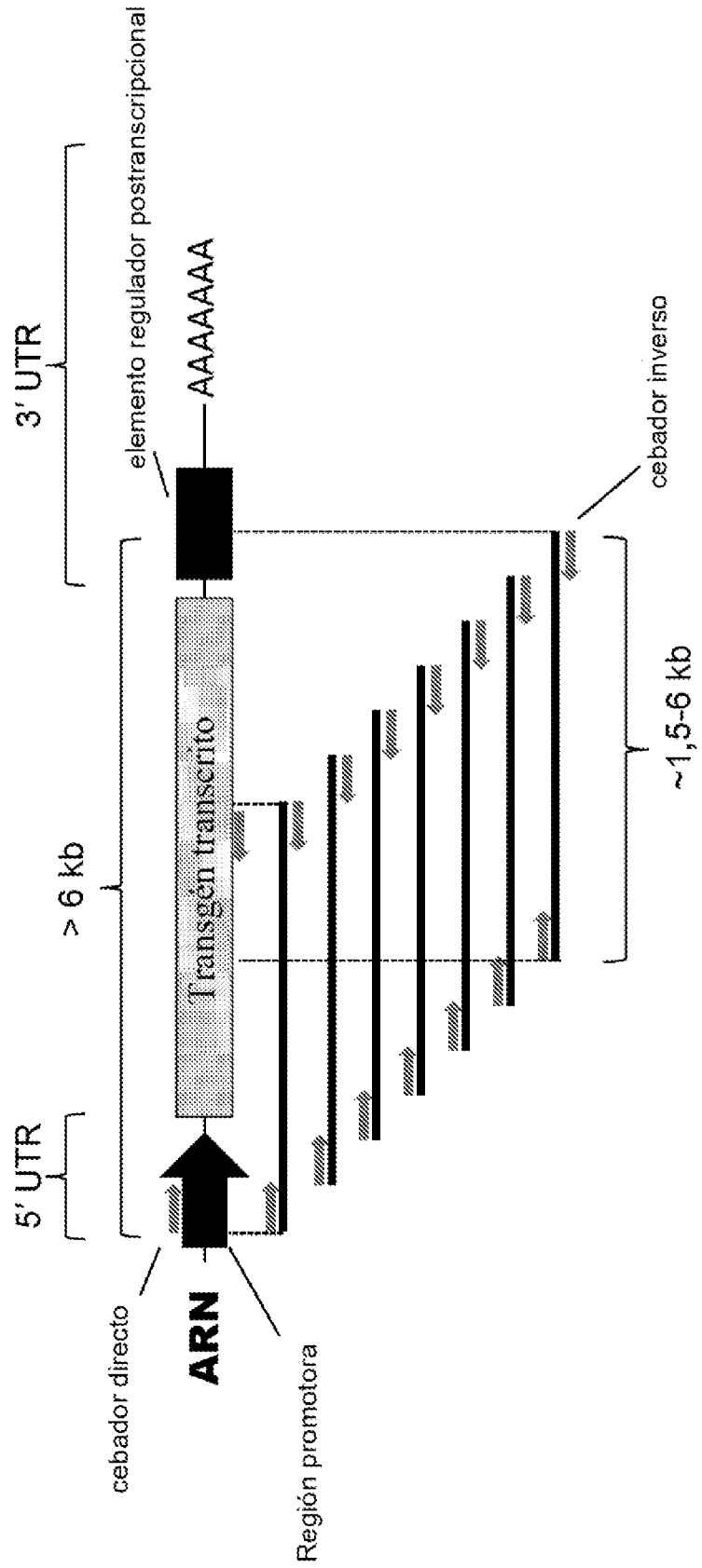


FIG. 21C


3' UTR
elemento regulador postranscripcional
AAAAAAA
cebador inverso
5' UTR
> 6 kb
Transgén transcrito
~1,5-6 kb
cebador directo
ARN
Región promotora