

Presentado electrónicamente el 18 de julio de 2018

RECEPTORES QUÍMERICOS DE STEAP1 Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El cáncer de próstata es el cáncer diagnosticado con más frecuencia en los hombres, aparte del cáncer de piel. Con un estimado de 28,170 muertes en 2012, el cáncer de próstata es la segunda causa de muerte por cáncer en los hombres. La terapia hormonal, la quimioterapia, la radiación o una combinación de estos tratamientos se usan para tratar enfermedades más avanzadas. A pesar de los avances identificados anteriormente en la terapia del cáncer de próstata, existe una gran necesidad de agentes terapéuticos adicionales capaces de inhibir eficazmente la progresión del cáncer de próstata, incluso en el cáncer de próstata sin tratamiento previo con el inhibidor del receptor de andrógenos.

Se ha demostrado que las células inmunitarias modificadas por ingeniería genética poseen cualidades deseadas en tratamientos terapéuticos, particularmente en oncología. Dos tipos principales de células inmunitarias modificadas por ingeniería genética son aquellas que contienen receptores quiméricos para antígenos (denominados "CAR" o "T-CAR") y receptores de células T ("TCR"). Estas células modificadas por ingeniería genética se modifican para dotarlas de especificidad de antígeno mientras que conservan o mejoran su capacidad para reconocer y destruir una célula diana. Los receptores quiméricos para antígenos pueden comprender, por ejemplo, (i) un componente específico de antígeno ("molécula de unión a antígeno"), (ii) uno o más dominios coestimuladores, y (iii) uno o más dominios de activación. Cada dominio puede ser heterogéneo, es decir, compuesto de secuencias procedentes de diferentes cadenas de proteínas. Las células inmunitarias que expresan el receptor quimérico para antígeno (como las células T) se pueden usar en varias terapias, incluidas las terapias contra el cáncer. Se apreciará que los polipéptidos coestimulantes como se definen en la presente pueden usarse para mejorar la activación de células que expresan CAR contra antígenos diana y, por lo tanto, aumentar la potencia de la inmunoterapia adoptiva.

Las células T se pueden modificar por ingeniería genética para poseer especificidad a uno o más dianas deseadas. Por ejemplo, las células T se pueden transducir con ADN u otro material genético que codifica una molécula de unión a antígeno, tal como uno o más fragmentos de cadena variable única ("scFv") de un anticuerpo, junto con una o más moléculas de señalización, y/o uno o más dominios de activación, tales como CD3 zeta.

Además de la capacidad de las células T-CAR para reconocer y destruir las células dianas, la exitosa terapia con células T se beneficia de la capacidad de las células T-CAR para persistir y mantener la capacidad de proliferar en respuesta al antígeno.

Existe una necesidad de identificar terapias nuevas y mejoradas para tratar enfermedades y trastornos relacionados con STEAP1.

COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

La invención se refiere a células inmunitarias modificadas por ingeniería genética (tales como CAR o TCR), moléculas de unión a antígeno (que incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos, scFv, cadenas pesadas y/o ligeras, y CDR de estas moléculas de unión a antígeno) con especificidad para STEAP1.

Los receptores quiméricos para antígenos de la invención normalmente comprenden: (i) una molécula de unión a antígeno específica para STEAP1, (ii) uno o más dominios coestimuladores, y (iii) uno o más dominios de activación. Se apreciará que cada dominio puede ser heterogéneo, por lo que comprende secuencias procedentes de diferentes cadenas de proteínas.

En algunas modalidades, la invención se refiere a un receptor quimérico para antígeno que comprende una molécula de unión a antígeno que se une específicamente a STEAP1, en donde la molécula de unión a antígeno comprende al menos uno de: (a) una CDR1 de cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEQ ID NO: 89, 99, 109, 119, 129 o 139 en no más de 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos; (b) una CDR2 de cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEQ ID NO: 90, 100, 110, 120, 130 o 140 en no más de 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos; (c) una CDR3 de cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEQ ID NO: 91, 101, 111, 121, 131 o 141 en no más de 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos; (d) una CDR1 de cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEQ ID NO: 94, 104, 114, 124, 134 o 14 en no más de 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos; (e) una CDR2 de cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEQ ID NO: 95, 105, 115, 125, 135 o 145 en no más de 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos; (f) una CDR3 de cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la SEQ ID: 96, 106, 116, 126, 136 o 146 en no más de 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos.

En otras modalidades, el receptor quimérico para antígeno comprende además al menos un dominio coestimulador. En modalidades adicionales, el receptor quimérico para antígeno comprende además al menos un dominio de activación.

En ciertas modalidades, el dominio coestimulador es una región de señalización de CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada-1 (PD-1), coestimulador inducible de células T (ICOS), antígeno-1 asociado a la función de los linfocitos (LFA-1, CDI-la/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, alfa Ig (CD79a), DAP-10, receptor gamma Fc, molécula MHC clase 1, proteínas receptoras de TNF, una proteína de inmunoglobulina, receptor de citocinas, integrinas, moléculas de activación linfocítica de señalización (proteínas SLAM), receptores de células NK de activación, BTLA, un receptor de ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1,

GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI Ia, LFA-1, ITGAM, CDI Ib, ITGAX, CDI Ic, ITGBI, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, LyI08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente con CD83, o cualquier combinación de los mismos.

En algunas modalidades, el dominio coestimulador procede de 4-1BB. En otras modalidades, el dominio coestimulador procede de OX40. Véase también Hombach *et al.*, *Oncoimmunology*. 1 de julio de 2012; 1(4): 458-466. En aún otras modalidades, el dominio coestimulador comprende ICOS como se describe en Guedan *et al.*, 14 de agosto de 2014; *Blood*: 124 (7) y Shen *et al.*, *Journal of Hematology & Oncology* (2013) 6:33. En aún otras modalidades, el dominio coestimulador comprende CD27 como se describe en Song *et al.*, *Oncoimmunology*. 1 de julio de 2012; 1(4): 547-549.

En determinadas modalidades, el dominio coestimulador CD28 comprende la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 8. En modalidades adicionales, el dominio coestimulador CD8 comprende la SEQ ID NO: 14. En modalidades adicionales, el dominio de activación comprende CD3, CD3 zeta o CD3 zeta que tienen la secuencia establecida en la SEQ ID NO: 10.

En otras modalidades, la invención se refiere a un receptor quimérico para antígeno en el que el dominio coestimulador comprende la SEQ ID NO: 2 y el dominio de activación comprende la SEQ ID NO: 10.

La invención se refiere además a polinucleótidos que codifican los receptores quiméricos para antígenos, y vectores que comprenden los polinucleótidos. El vector puede ser, por ejemplo, un vector retroviral, un vector de ADN, un plásmido, un vector de ARN, un vector adenoviral, un vector asociado a adenovirus, un vector lentiviral, o cualquier combinación de los mismos. La invención se refiere además a células inmunitarias que comprenden los vectores. En algunas modalidades, el vector lentiviral es un vector pGAR.

Las células inmunitarias ejemplares incluyen, pero no se limitan a, células T, linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), células NK, células que expresan TCR, células dendríticas o células NK-T. Las células T pueden ser autólogas, alogénicas o heterólogas. En otras modalidades, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden las células inmunitarias descritas en la presente.

En ciertas modalidades, la invención se refiere a moléculas de unión a antígeno (y receptores quiméricos para antígenos que comprenden estas moléculas) que comprenden al menos uno de:

(a) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 2F3 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 2F3 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos;

(b) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 11C2 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 11C2 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos;

(c) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 1A1 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 1A1 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos;

(d) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 7A4 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 7A4 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos; y

(e) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 7A5 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 7A5 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos;

(f) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 14C1 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 14C1 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 restos de aminoácidos;

y en el que la región o regiones VH y VL están unidas por al menos un enlazador.

En otras modalidades, la invención se refiere a moléculas de unión a antígeno (y receptores quiméricos para antígenos que comprenden estas moléculas) en donde el enlazador comprende al menos uno del enlazador de scFv G4S y el enlazador de scFv Whitlow.

En otras modalidades, la invención se refiere a vectores que codifican los polipéptidos de la invención y a células inmunitarias que comprenden estos polipéptidos. Las células inmunitarias preferidas incluyen células T, linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), células NK, células que expresan TCR, células dendríticas o células NK-T. Las células T pueden ser autólogas, alogénicas o heterólogas.

En otras modalidades, la invención se refiere a polinucleótidos aislados que codifican un receptor quimérico para antígeno (CAR) o un receptor de células T (TCR) que comprende una molécula de unión a antígeno que se une específicamente a STEAP1, en donde la molécula de unión a antígeno comprende una CDR3 de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 27. Los polinucleótidos pueden comprender además un dominio de activación. En modalidades preferidas, el dominio de activación es CD3, más preferentemente CD3 zeta o más preferentemente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 9.

En otras modalidades, la invención incluye un dominio coestimulador, tal como CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (alfa, beta, delta, épsilon, gamma, zeta), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD 33, CD37, CD40, CD 45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, PD-1, ICOS, antígeno 1 asociado a la función linfocítica (LFA-1 (CD11a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (miembro de la superfamilia del factor de necrosis tumoral 14; TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor gamma Fc, molécula MHC clase I, TNF, TNFr, integrina, molécula de activación linfocítica de señalización, BTLA, receptor de ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI-Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI-Ia, LFA-1, ITGAM, CDI-Ib, ITGAX, CDI-Ic, ITGBI, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, ligando CD83, o fragmentos o combinaciones de los mismos. Los dominios coestimuladores preferidos se mencionan a continuación en la presente.

La invención se refiere además a métodos para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto las moléculas de unión a antígeno, CAR, TCR, polinucleótidos, vectores, células o composiciones de acuerdo con la invención. Las enfermedades adecuadas para el tratamiento incluyen, pero no se limitan a, cáncer de próstata, incluyendo cáncer de próstata metastásico resistente a la castración.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1, representa el análisis de citometría de flujo de la expresión de STEAP1 en la superficie celular en líneas celulares humanas.

La Figura 2, representa la expresión de CAR en células T humanas primarias electroporadas con ARNm que codifica diversos CAR.

La Figura 3, representa la actividad citolítica de células T CAR electroporadas contra múltiples líneas celulares.

La Figura 4, que comprende las Figuras 3A y 3B, representa la producción de IFN γ , IL-2 y TNF α por células T CAR electroporadas.

La Figura 5, representa la expresión de CAR en lentivirus transducido de células T humanas primarias de dos donantes sanos.

La Figura 6, representa el mapa vectorial de pGAR.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Se apreciará que los receptores quiméricos para antígenos (CAR o T-CAR) y los receptores de células T (TCR) son receptores modificados genéticamente. Estos receptores modificados por ingeniería genética se pueden insertar y expresar fácilmente por las células inmunitarias, incluidas las células T de acuerdo con las técnicas conocidas en la materia. Con un CAR, se puede programar un solo receptor para que reconozca un antígeno específico y, cuando se une a ese antígeno, active la célula inmunitaria para atacar y destruir la célula que contiene ese antígeno. Cuando estos antígenos existen en las células tumorales, una célula inmunitaria que expresa el CAR puede atacar y destruir la célula tumoral.

Los CAR se pueden modificar por ingeniería genética para unirse a un antígeno (como un antígeno de la superficie celular) mediante la incorporación de una molécula de unión al antígeno que interactúa con ese antígeno diana. Preferentemente, la molécula de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo del mismo, y más preferentemente uno o más fragmentos de anticuerpo de cadena única ("scFv"). Un scFv es un fragmento de anticuerpo de cadena única que tiene las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo unidas entre sí. Véanse las patentes de EE.UU. N.º 7,741,465 y 6,319,494, así como Eshhar *et al.*, Cancer Immunol Immunotherapy (1997) 45: 131-136. Un scFv conserva la capacidad del anticuerpo original para interactuar específicamente con el antígeno diana. Se prefieren los scFv para su uso en receptores quiméricos para antígenos porque pueden modificarse por ingeniería genética para que se expresen como parte de una sola cadena junto con los otros componentes del CAR. *Id.* Véase también Krause *et al.*, J. Exp. Med., Volumen 188, N.º 4, 1998 (619-626); Finney *et al.*, *Journal of Immunology*, 1998, 161: 2791-2797. Se apreciará que la molécula de unión a antígeno está contenida normalmente dentro de la porción extracelular del CAR, de manera que es capaz de reconocer y unirse al antígeno de interés. Los CAR biespecíficos y multiespecíficos se contemplan dentro del alcance de la invención, con especificidad para más de una diana de interés.

Dominios coestimuladores. Los receptores quiméricos para antígenos pueden incorporar dominios coestimuladores (señalización) para aumentar su potencia. Véanse las patentes de EE.UU. N.º 7,741,465 y 6,319,494, así como Krause *et al.* y Finney *et al.* (supra),

Song *et al.*, Blood 119: 696-706 (2012); Kalos *et al.*, Sci Transl. Med. 3:95 (2011); Porter *et al.*, N. Engl. J. Med. 365:725-33 (2011), y Gross *et al.*, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 56:59–83 (2016). Por ejemplo, CD28 es una proteína coestimuladora que se encuentra naturalmente en células T. La secuencia de aminoácidos natural completa de CD28 se describe en la secuencia de referencia del NCBI: NP_006130.1. La secuencia de ácido nucleico natural completa de CD28 se describe en la secuencia de referencia del NCBI: NM_006139.1.

Determinados dominios de CD28 se han utilizado en receptores quiméricos para antígenos. En una modalidad, se puede usar un nuevo dominio extracelular de CD28, denominado "CD28T", y se ha encontrado inesperadamente que proporciona determinados beneficios cuando se utiliza en un constructo CAR.

La secuencia de nucleótidos de la molécula CD28T, incluido el dominio extracelular de CD28T, y los dominios transmembrana e intracelular de CD28 se exponen en la SEQ ID NO: 1:

```
CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCT
GTCCGTCACCCTTGTTCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTG
GAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATC
CAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCC
CACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGC
```

La secuencia de aminoácidos correspondiente se expone en la SEQ ID NO: 2:

```
LDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFVWLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRS
KRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
```

La secuencia de nucleótidos de la porción extracelular de CD28T se expone en la SEQ ID NO: 3:

```
CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCT
GTCCGTCACCCTTGTTCCTGGTCCATCCAAGCCA
```

La secuencia de aminoácidos correspondiente del dominio extracelular de CD28T se expone en la SEQ ID NO: 4: LDNEKSNGTI IHVKGKHLCP SPLPGPSKP

La secuencia de nucleótidos del dominio transmembrana de CD28 se expone en la SEQ ID NO: 5:

```
TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCA
CCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTT
```

La secuencia de aminoácidos del dominio transmembrana de CD28 se expone en SEQ ID NO:6: FWLVVVGGV LACYSLLVTV AFIIFWV

La secuencia de nucleótidos del dominio de señalización intracelular de CD28 se expone en la SEQ ID NO: 7:

AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCC
GCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCT
ATCGGAGC

La secuencia de aminoácidos del dominio de señalización intracelular de CD28 se
expone en la SEQ ID NO: 8: RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

5 Las secuencias de CD28 adicionales adecuadas para su uso en la invención incluyen la
secuencia de nucleótidos de CD28 expuesta en la SEQ ID NO: 11:

ATTGAGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACGGTACCA
TCATTCACGTGAAAGGTAAACACCTGTGTCCTTCTCCCCTCTTCCCCGGGCCATCAAAGC
CC

10 La secuencia de aminoácidos correspondiente se expone en la SEQ ID NO: 12:

IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKP

Otras secuencias extracelulares o transmembrana adecuadas pueden proceder de CD8.
La secuencia de nucleótidos de un dominio extracelular y transmembrana de CD8 adecuado se
expone en la SEQ ID NO: 13:

15 GCTGCAGCATTGAGCAACTCAATAATGTATTTTAGTCACTTTGTACCAGTGTTCTTG
CCGGCTAAGCCTACTACCACACCCGCTCCACGGCCACCTACCCCAGCTCCTACCATCGC
TTCACAGCCTCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCTTGCCGACCGGCCGCAGGGGGCGCTGTT
CATAACAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGCCGGAACC
TGCGGCGTACTCCTGCTGTCCCTGGTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGAAC

20 La secuencia de aminoácidos correspondiente se expone en la SEQ ID NO: 14:

AAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH
TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN

Otras secuencias de señalización intracelular adecuadas pueden proceder de 41-BB. La
secuencia de nucleótidos de un dominio de señalización intracelular de 41-BB se expone en la
SEQ ID NO: 15:

25 CGCTTTTCCGTCGTTAAGCGGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGC
CGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCT
GAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTG

La secuencia de aminoácidos correspondiente se expone en la SEQ ID NO: 16:

30 RFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

Los dominios coestimuladores adecuados dentro del alcance de la invención pueden
proceder de, entre otras fuentes, CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (alfa, beta,
delta, épsilon, gamma, zeta), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD 33, CD37,
CD40, CD 45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, PD-1, ICOS, antígeno 1 asociado
35 a la función linfocítica (LFA-1 (CD11a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (miembro de la

superfamilia del factor de necrosis tumoral 14; TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor gamma Fc, molécula MHC clase I, TNF, TNFr, integrina, molécula de activación linfocítica de señalización, BTLA, receptor de ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI-Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI-Ia, LFA-1, ITGAM, CDI-Ib, ITGAX, CDI-Ic, ITGBI, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, ligando CD83, o fragmentos o combinaciones de los mismos.

Dominios de activación.

CD3 es un elemento del receptor de células T en las células T naturales, y se ha demostrado que es un elemento de activación intracelular importante en los CAR. En una modalidad preferida, el CD3 es CD3 zeta, cuya secuencia de nucleótidos se expone en la SEQ ID NO: 9:

```
AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACC
AACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCA
GAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCT
CTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGG
AGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGA
AGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG
```

El aminoácido correspondiente de CD3 zeta intracelular se expone en la SEQ ID NO: 10:

```
RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPR
RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP
R
```

ORIENTACION DE DOMINIOS

Estructuralmente, se apreciará que estos dominios corresponden a ubicaciones relativas a la célula inmunitaria. Por lo tanto, estos dominios pueden ser parte del (i) dominio "bisagra" o extracelular (EC), (ii) el dominio transmembrana (TM) y/o (iii) el dominio intracelular (citoplásmico) (IC). El componente intracelular con frecuencia comprende en parte un miembro de la familia CD3, preferentemente CD3 zeta, que es capaz de activar la célula T tras la unión de la molécula de unión a antígeno a su diana. En una modalidad, el dominio de bisagra está compuesto normalmente de al menos un dominio coestimulador como se define en la presente.

También se apreciará que la región bisagra también puede contener parte o la totalidad de un miembro de la familia de inmunoglobulinas, tal como, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgD, IgE, IgM, o un fragmento de las mismas.

Los constructos CAR ejemplares de acuerdo con la invención se exponen en la Tabla 1.

Tabla 1

Nombre del constructo	scFv	Dominio coestimulador	Dominio de activación
2F3-CD28T-CD28-41BB	2F3	CD28T, 4-1BB	CD3 zeta
2F3-CD28T-CD28	2F3	CD28T	CD3 zeta
2F3-CD28T-41BB	2F3	4-1BB	CD3 zeta
2F3-C8K-CD28	2F3	CD28T	CD3 zeta
2F3-C8K-41BB	2F3	4-1BB	CD3 zeta
11C2-CD28T-CD28-41BB	11C2	CD28T, 4-1BB	CD3 zeta
11C2-CD28T-CD28	11C2	CD28T	CD3 zeta
11C2-CD28T-41BB	11C2	4-1BB	CD3 zeta
11C2-C8K-CD28	11C2	CD28T	CD3 zeta
11C2-C8K-41BB	11C2	4-1BB	CD3 zeta
1A1-CD28T-CD28-41BB	1A1	CD28T, 4-1BB	CD3 zeta
1A1-CD28T-CD28	1A1	CD28T	CD3 zeta
1A1-CD28T-41BB	1A1	4-1BB	CD3 zeta
1A1-C8K-CD28	1A1	CD28T	CD3 zeta
1A1-C8K-41BB	1A1	4-1BB	CD3 zeta
7A4-CD28T-CD28-41BB	7A4	CD28T, 4-1BB	CD3 zeta
7A4-CD28T-CD28	7A4	CD28T	CD3 zeta
7A4-CD28T-41BB	7A4	4-1BB	CD3 zeta
7A4-C8K-CD28	7A4	CD28T	CD3 zeta
7A4-C8K-41BB	7A4	4-1BB	CD3 zeta
7A5-CD28T-CD28-41BB	7A5	CD28T, 4-1BB	CD3 zeta
7A5-CD28T-CD28	7A5	CD28T	CD3 zeta
7A5-CD28T-41BB	7A5	4-1BB	CD3 zeta
7A5-C8K-CD28	7A5	CD28T	CD3 zeta
7A5-C8K-41BB	7A5	4-1BB	CD3 zeta
14C1-CD28T-CD28-41BB	14C1	CD28T, 4-1BB	CD3 zeta
14C1-CD28T-CD28	14C1	CD28T	CD3 zeta
14C1-CD28T-41BB	14C1	4-1BB	CD3 zeta

14C1-C8K-CD28	14C1	CD28T	CD3 zeta
14C1-C8K-41BB	14C1	4-1BB	CD3 zeta

DOMINIOS RELATIVOS A LA CÉLULA

Se apreciará que en relación con la célula que lleva el receptor, las células T modificadas por ingeniería genética de la invención comprenden una molécula de unión a antígeno (como un scFv), un dominio extracelular (que puede comprender un dominio "bisagra"), un dominio transmembrana y un dominio intracelular. El dominio intracelular comprende al menos en parte un dominio de activación, que comprende preferentemente un miembro de la familia CD3 tal como CD3 zeta, CD3 épsilon, CD3 gamma, o porciones de los mismos. Además, se apreciará que la molécula de unión a antígeno (por ejemplo, uno o más scFv) está modificada por ingeniería genética de manera tal que se ubica en la porción extracelular de la molécula/construido, de manera que sea capaz de reconocer y unirse a su diana o dianas.

Dominio extracelular. El dominio extracelular es beneficioso para la señalización y para una respuesta eficaz de los linfocitos a un antígeno. Los dominios extracelulares de uso particular en esta invención pueden proceder de (es *decir*, comprenden) CD28, CD28T, CD8, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada-1 (PD-1), coestimulador de células T inducible (ICOS), antígeno 1 asociado a la función linfocítica (LFA-1, CDI-la/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor gamma Fc, molécula MHC clase 1, proteínas receptoras TNF, una proteína Inmunoglobulina, receptor de citocina, integrinas, moléculas de activación linfocítica de señalización (proteínas SLAM), receptores de células NK de activación, BTLA, un receptor de ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFRR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRP1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI Ia, LFA-1, ITGAM, CDI Ib, ITGAX, CDI Ic, ITGBI, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente con CD83, o cualquier combinación de los mismos. El dominio extracelular puede proceder de una fuente natural o de una fuente sintética.

Como se describe en la presente, los dominios extracelulares a menudo comprenden una parte de bisagra. Esta es una parte del dominio extracelular, a veces denominada región "espaciadora". Se puede emplear una variedad de bisagras de acuerdo con la invención, que

incluyen moléculas coestimuladoras como se discutió anteriormente, así como secuencias de inmunoglobulinas (Ig) u otras moléculas adecuadas para lograr la distancia especial deseada desde la célula diana. En algunas modalidades, la región extracelular entera comprende una región bisagra. En algunas modalidades, la región bisagra comprende CD28T o el dominio EC de CD28.

5 **Dominio transmembrana.** El CAR puede diseñarse para comprender un dominio transmembrana que se fusiona con el dominio extracelular del CAR. De manera similar, se puede fusionar con el dominio intracelular del CAR. En una modalidad, se usa el dominio transmembrana que naturalmente está asociado con uno de los dominios en un CAR. En algunos casos, el dominio transmembrana puede seleccionarse o modificarse mediante la
10 sustitución de aminoácidos para evitar la unión de dichos dominios a los dominios transmembrana de las mismas o diferentes proteínas de membrana de superficie para minimizar las interacciones con otros miembros del complejo receptor. El dominio transmembrana puede proceder de una fuente natural o de una fuente sintética. Cuando la fuente es natural, el dominio puede proceder de cualquier proteína unida a la membrana o transmembrana. Las regiones
15 transmembrana de uso particular en esta invención pueden proceder de (es decir, comprenden) CD28, CD28T, CD8, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada-1 (PD-1), coestimulador de células T inducible (ICOS), antígeno 1 asociado a la función linfocítica (LFA-1, CDI-1a/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor gamma Fc, molécula MHC clase
20 1, proteínas receptoras TNF, una proteína Inmunoglobulina, receptor de citocina, integrinas, moléculas de activación linfocítica de señalización (proteínas SLAM), receptores de células NK de activación, BTLA, un receptor de ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFRR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4,
25 IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI Ia, LFA-1, ITGAM, CDI Ib, ITGAX, CDI Ic, ITGBI, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT,
30 GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente con CD83, o cualquier combinación de los mismos.

Opcionalmente, los enlazadores cortos pueden formar enlaces entre cualquiera o algunos de los dominios extracelular, transmembrana e intracelular del CAR.

En una modalidad, el dominio transmembrana en el CAR de la invención es un dominio transmembrana de CD8. En una modalidad, el dominio transmembrana de CD8 comprende la
35

porción transmembrana de la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 13. En otra modalidad, el dominio transmembrana de CD8 comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos transmembrana contenida dentro de la SEQ ID NO: 14.

En determinadas modalidades, el dominio transmembrana en el CAR de la invención es un dominio transmembrana de CD28. En una modalidad, el dominio transmembrana de CD28 comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 5. En una modalidad, el dominio transmembrana de CD28 comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. En otra modalidad, el dominio transmembrana de CD28 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6.

Dominio intracelular (citoplasmático). El dominio intracelular (citoplásmico) de las células T modificadas por ingeniería genética de la invención puede proporcionar la activación de al menos una de las funciones efectoras normales de la célula inmunitaria. La función efectora de una célula T, por ejemplo, puede ser la actividad citolítica o la actividad auxiliar, incluida la secreción de citocinas.

Se apreciará que las moléculas intracelulares adecuadas incluyen (*es decir*, comprenden), pero no se limitan a CD28, CD28T, CD8, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada-1 (PD-1), coestimulador de células T inducible (ICOS), antígeno 1 asociado a la función linfocítica (LFA-1, CD11a/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor gamma Fc, molécula MHC clase 1, proteínas receptoras TNF, una proteína Inmunoglobulina, receptor de citocina, integrinas, moléculas de activación linfocítica de señalización (proteínas SLAM), receptores de células NK de activación, BTLA, un receptor de ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente con CD83, o cualquier combinación de los mismos.

En una modalidad preferida, el dominio citoplásmico del CAR puede diseñarse para que comprenda el dominio de señalización de CD3 zeta por sí mismo o en combinación con cualquier otro dominio(s) citoplásmico deseado útil en el contexto del CAR de la invención. Por ejemplo, el dominio citoplásmico del CAR puede comprender una porción de cadena de CD3 zeta y una región de señalización coestimuladora.

Las secuencias de señalización citoplásmicas dentro de la porción de señalización citoplásmica del CAR de la invención se pueden enlazar entre sí en un orden aleatorio o específico.

En una modalidad preferida, el dominio citoplásmico está diseñado para comprender el dominio de señalización de CD3 zeta y el dominio de señalización de CD28. En otra modalidad, el dominio citoplásmico está diseñado para comprender el dominio de señalización de CD3 zeta y el dominio de señalización de 4-1BB, en donde el CD28 citoplásmico comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 15 y la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 16. . En otra modalidad, el dominio citoplásmico en el CAR de la invención está diseñado para comprender una porción de CD28 y CD3 zeta, en donde el CD28 citoplásmico comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 7 y la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 8. La secuencia de ácido nucleico de CD3 zeta se expone en la SEQ ID NO: 9, y la secuencia de aminoácidos se expone en la SEQ ID NO: 8.

Se apreciará que una orientación preferida de los CAR de acuerdo con la invención comprende un dominio de unión a antígeno (tal como scFv) en tándem con un dominio coestimulador y un dominio de activación. El dominio coestimulador puede comprender uno o más de una porción extracelular, una porción transmembrana y una porción intracelular. Se apreciará además que pueden utilizarse múltiples dominios coestimuladores en tándem.

En algunas modalidades, se proporcionan ácidos nucleicos que comprenden un promotor unido de manera operativa a un primer polinucleótido que codifica una molécula de unión a antígeno, al menos una molécula coestimuladora, y un dominio de activación.

En algunas modalidades, el constructo de ácido nucleico está contenido dentro de un vector viral. En algunas modalidades, el vector viral se selecciona del grupo que consiste en vectores retrovirales, vectores de virus de leucemia murina, vectores de SFG, vectores adenovirales, vectores lentivirales, vectores de virus adenoasociados (AAV), vectores de virus de herpes y vectores de virus de la variolovacuna. En algunas modalidades, el ácido nucleico está contenido dentro de un plásmido.

La invención se refiere además a polinucleótidos aislados que codifican los receptores quiméricos para antígenos, y vectores que comprenden los polinucleótidos. Cualquier vector conocido en la materia puede ser adecuado para la presente invención. En algunas modalidades, el vector es un vector viral. En algunas modalidades, el vector es un vector retroviral (tal como pMSVG1), un vector de ADN, un vector de virus de leucemia murino, un vector de SFG, un plásmido, un vector de ARN, un vector adenoviral, un vector de baculovirus, un vector viral de Epstein Barr, un vector papovaviral, un vector viral de la variolovacuna, un vector viral del herpes simplex, un vector asociado a adenovirus (AAV), un vector lentiviral (tal

como pGAR), o cualquier combinación de los mismos. El mapa vectorial de pGAR se muestra en la FIGURA 6. La secuencia de pGAR es la siguiente:

```
CTGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGC
AGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCC
TTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGG
5 TTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCAC
GTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCT
TTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTT
GATTTATAAGGGATTTTGGCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAA
ATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTGCCATTCGCCATTCAGGCTGC
10 GCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAA
GGGGGATGTGCTGCAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCAGTCACGACG
TTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTGTAATACGACTCACTATAGGGCGACCCGGGGATGGC
GCGCCAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACA
TAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGGCCATTGACGTC
15 AATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTG
GAGTATTTACGGTAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGC
CCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCT
TATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGCTGAT
GCGGTTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAG
20 TCTCCACCCCATTTGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCA
AAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGA
GGTCTATATAAGCAGAGCTGGTTTAGTGAACCGGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGA
GCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCT
TGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTC
25 AGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAG
CGAAAGGGAAACCAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCAC
GGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTGACTAGCGGAGGC
TAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGGAGAATTAGATCGCG
ATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGGAAAGAAAAAATATAAATTAACATATAGTA
30 TGGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTGCGAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAA
GGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAAGTT
AGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAG
ACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCACCGCAC
AGCAAGCCGCGCTGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAG
35 TGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCA
```

AAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCCTTGG
GTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGG
CCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAAATTTGCTGAGGGGCTATTGAGG
CGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCC
TGGCTGTGGAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTTGGGGTTGCTCTGGAA
5 AACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGAATGCTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACA
GATTTGGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTACACAAGCTT
AATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGAAAAGAATGAACAAGAATTATTG
GAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAACATAACAAATTGGCTGTGGTATA
TAAAATTATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTTGCTGTACTT
10 TCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCATTATCGTTTTAGACCCACCTCCCAA
CCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAG
AGACAGATCCATTCGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTTAACTTTTAAAAGAAAA
GGGGGGATTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACAT
ACAAACTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAATTCAAAATTTTATCGCGATCGCGGAATG
15 AAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGG
AAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGAGACAGCAGA
ATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAA
CAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTC
CAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTC
20 GCTTCTCGCTTCTGTTGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCC
CTCACTCGGCGCGCCAGTCCTTCGAAGTAGATCTTTGTCGATCCTACCATCCACTCGACA
CACCCGCCAGCGGCCGCTGCCAAGCTTCCGAGCTCTCGAATTAATTCACGGTACCCACC
ATGGCCTAGGGAGACTAGTCGAATCGATATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGAT
TGACTGGTATTCTTAACATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCT
25 TTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTGTATAAATCCTGGTT
GCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGT
GTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGG
GACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCTGCCTTGCCCCG
CTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAGC
30 TGACGTCTTTTTATGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCT
TCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCG
GCTCTGCGGCCTCTTCGCGCTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGG
GCCGCCTCCCCGCCTGGTTAATTAAAGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTG
TAGATCTTAGCCACTTTTTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCGAATTCCTCCCAAC
35 GAAGACAAGATCTGCTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTG

GGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGT
GCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACC
CTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGGCATGCCAGACATGATAAGATACATTGATGA
GTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGAT
GCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCAT
5 TCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTTGGCGCGCCATCGTCGA
GGTTCCCTTTAGTGAGGGTTAATTGCGAGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTG
TGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTA
AGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCCG
TTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGA
10 GAGGCGGTTTTCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCG
GTCGTTCCGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCAC
AGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGA
ACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTTCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCAT
CACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAG
15 GCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGG
ATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAG
GTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCG
TTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGTAACCTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGAC
ACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTA
20 GGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTA
TTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGAT
CCGGCAAACAACACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGC
GCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGT
GGAACGAAAACCTCACGTAAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTA
25 GATCCTTTTAAATTAATAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAACTTGGTC
TGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTGTTCA
TCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCT
GGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTACCGGCTCCAGATTTATCAGC
AATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCT
30 CCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTT
GCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGC
TTCATTCACTCCGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAA
AAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTT
ATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGC
35 TTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCG

AGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAA
 GTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTG
 AGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCA
 CCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGGAATAAGG
 GCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCA
 5 GGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAACAAATAGGG
 GTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCAC (SEQ ID NO: 147)

Los vectores ejemplares adicionales adecuados incluyen, por ejemplo, pBABE-puro, pBABE-neo largeTcDNA, pBABE-hygro-hTERT, pMKO.1 GFP, MSCV-IRES-GFP, pMSCV PIG (Puro IRES GFP vacio de plásmido), pMSCV-loxp-dsRed-loxp-eGFP-Puro-WPRE, MSCV IRES
 10 Luciferasa, pMIG, MDH1-PGK-GFP_2.0, TtRMPVIR, pMSCV-IRES-mCherry FP, pRetroX GFP T2A Cre, pRXTN, pLncEXP, y pLXIN-Luc.

En algunas modalidades, la célula inmunitaria modificada por ingeniería genética es una célula T, un linfocito infiltrante de tumor (TIL), una célula NK, una célula que expresa TCR, una célula dendrítica o una célula NK-T. En algunas modalidades, la célula se obtiene o prepara a partir de sangre periférica. En algunas modalidades, la célula se obtiene o prepara a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). En algunas modalidades, la célula se obtiene o prepara a partir de médula ósea. En algunas modalidades, la célula se obtiene o prepara a partir de sangre de cordón umbilical. En algunas modalidades, la célula es una célula humana. En algunas modalidades, la célula se transfecta o se transduce mediante el vector de
 15 ácido nucleico usando un método seleccionado del grupo que consiste en electroporación, sonoporación, biolística (por ejemplo, Gene Gun), transfección de lípidos, transfección de polímeros, nanopartículas o poliplexes.

En algunas modalidades, los receptores quiméricos para antígenos se expresan en las células inmunitarias modificadas por ingeniería genética que comprenden los ácidos nucleicos de la presente solicitud. Estos receptores quiméricos para antígenos de la presente solicitud pueden comprender, en algunas modalidades, (i) una molécula de unión a antígeno (tal como un scFv), (ii) una región transmembrana y (iii) una molécula o región de activación de células T.
 25

MOLÉCULAS DE UNIÓN A ANTÍGENO

Las moléculas de unión a antígeno están dentro del alcance de la invención.

Una "molécula de unión a antígeno" como se usa en la presente significa cualquier proteína que se una a un antígeno diana específico. En la presente solicitud, el antígeno diana específico es la proteína STEAP1 o fragmento de la misma. Las moléculas de unión a antígeno incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos y partes de unión de los mismos, tales como fragmentos inmunológicamente funcionales. Los peptidocuerpos (es decir, moléculas de fusión Fc
 30

que comprenden dominios de unión a péptidos) son otro ejemplo de moléculas de unión a antígeno adecuadas.

En algunas modalidades, la molécula de unión a antígeno se une a un antígeno en una célula tumoral. En algunas modalidades, la molécula de unión a antígeno se une a un antígeno en una célula implicada en una enfermedad hiperproliferativa o a un antígeno viral o bacteriano. En determinadas modalidades, la molécula de unión a antígeno se une a STEAP1. En modalidades adicionales, la molécula de unión a antígeno es un anticuerpo o fragmento del mismo, que incluye una o más de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) del mismo. En modalidades adicionales, la molécula de unión a antígeno es un fragmento variable de cadena única (scFv).

La expresión "fragmento inmunológicamente funcional" (o "fragmento") de una molécula de unión a antígeno es una especie de molécula de unión a antígeno que comprende una porción (independientemente de cómo se obtiene o sintetiza esa porción) de un anticuerpo que carece de al menos alguno de los aminoácidos presentes en una cadena de longitud completa pero que todavía es capaz de unirse específicamente a un antígeno. Dichos fragmentos son biológicamente activos en el sentido que se unen al antígeno diana y pueden competir con otras moléculas de unión a antígeno, inclusive anticuerpos intactos, para unirse a un epítipo dado. En algunas modalidades, los fragmentos son fragmentos neutralizantes. En algunas modalidades, los fragmentos pueden bloquear o reducir la actividad de STEAP1. En un aspecto, dicho fragmento retendrá al menos una CDR presente en la cadena pesada o ligera de longitud completa y, en algunas modalidades, comprenderá una única cadena pesada y/o cadena ligera o parte de esta. Estos fragmentos pueden producirse mediante técnicas de ADN recombinante, o pueden producirse mediante escisión química o enzimática de moléculas de unión a antígeno, inclusive anticuerpos intactos.

Los fragmentos de inmunoglobulina inmunológicamente funcionales incluyen, pero no se limitan a, fragmentos scFv, fragmentos Fab (Fab', F(ab')₂ y similares), una o más CDR, un diacuerpo (dominio variable de cadena pesada en el mismo polipéptido que un dominio variable de cadena ligera, conectado a través de un enlazador peptídico corto que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena), anticuerpos de dominio y anticuerpos de cadena única. Estos fragmentos pueden proceder de cualquier fuente de mamíferos, incluidos, pero sin limitación, seres humanos, ratones, ratas, camélidos o conejos. Como un experto en la técnica apreciará, una molécula de unión a antígeno puede incluir componentes no proteicos.

Las variantes de las moléculas de unión a antígeno también están dentro del alcance de la invención, por ejemplo, cadenas ligeras variables y/o pesadas variables que tienen cada una al menos el 70-80 %, 80-85 %, 85-90 %, 90-95 %, 95-97 %, 97-99 %, o más del 99 % de

identidad con las secuencias de aminoácidos de las secuencias descritas en la presente. En algunos casos, dichas moléculas incluyen al menos una cadena pesada y una cadena ligera, mientras que en otros casos las formas variantes contienen dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas (o subpartes de las mismas). Un experto en la técnica será capaz de determinar variantes adecuadas de las moléculas de unión a antígeno como se expone en la presente usando técnicas bien conocidas. En determinadas modalidades, un experto en la técnica puede identificar áreas adecuadas de la molécula que pueden cambiarse sin destruir la actividad dirigiéndose a regiones que no se consideran importantes para la actividad.

En determinadas modalidades, la estructura polipeptídica de las moléculas de unión a antígeno se basa en anticuerpos, incluidos, pero sin limitación, anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos (a veces denominados en la presente como "miméticos de anticuerpos"), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, fusiones de anticuerpos (algunas veces denominados en la presente como "conjugados de anticuerpos") y fragmentos de los mismos, respectivamente. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende o consiste en avímeros.

En algunas modalidades, una molécula de unión a antígeno de STEAP1 se administra sola. En otras modalidades, la molécula de unión a antígeno de STEAP1 se administra como parte de un CAR, TCR u otra célula inmunitaria. En dichas células inmunitarias, la molécula de unión a antígeno de STEAP1 puede estar bajo el control de la misma región promotora, o un promotor separado. En determinadas modalidades, los genes que codifican agentes proteicos y/o una molécula de unión a antígeno de STEAP1 pueden estar en vectores separados.

La invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula de unión a antígeno de STEAP1 junto con un diluyente, vehículo, solubilizante, emulsionante, conservante y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, las composiciones farmacéuticas incluirán más de una molécula de unión a antígeno de STEAP1 diferente. En determinadas modalidades, las composiciones farmacéuticas incluirán más de una molécula de unión a antígeno de STEAP1, en donde las moléculas de unión a antígeno de STEAP1 se unen a más de un epítipo. En algunas modalidades, las diversas moléculas de unión a antígeno no competirán entre sí por la unión a STEAP1.

En otras modalidades, la composición farmacéutica puede seleccionarse para administración parenteral, para inhalación o para administración a través del tracto digestivo, tal como por vía oral. La preparación de dichas composiciones farmacéuticamente aceptables está dentro de la capacidad de un experto en la técnica. En determinadas modalidades, se utilizan soluciones tamponadoras para mantener la composición a un pH fisiológico o a un pH levemente

menor, normalmente dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 8. En determinadas modalidades, cuando se contempla la administración parenteral, una composición terapéutica puede estar en forma de una solución acuosa parenteralmente aceptable, libre de pirógenos, que comprende una molécula de unión a antígeno deseada de STEAP1, con o sin agentes terapéuticos adicionales, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, un vehículo para inyección parenteral es agua destilada estéril en la que se formula una molécula de unión a antígeno de STEAP1, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, como una solución isotónica estéril, conservada adecuadamente. En determinadas modalidades, la preparación puede implicar la formulación de la molécula deseada con compuestos poliméricos (tales como el ácido poliláctico o el ácido poliglicólico), perlas o liposomas que pueden proporcionar la liberación controlada o sostenida del producto que luego se puede administrar a través de una inyección de depósito. En determinadas modalidades, pueden usarse dispositivos de administración de fármacos implantables para introducir la molécula deseada.

En algunas modalidades, la molécula de unión a antígeno se utiliza como herramienta de diagnóstico o validación. La molécula de unión a antígeno se puede usar para analizar la cantidad de STEAP1 presente en una muestra y/o sujeto. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de diagnóstico no es neutralizante. En algunas modalidades, las moléculas de unión a antígeno desveladas en la presente se usan o proporcionan en un kit y/o método de ensayo para la detección de STEAP1 en tejidos o células de mamíferos con el fin de detectar/diagnosticar una enfermedad o trastorno asociado con cambios en los niveles de STEAP1. El kit puede comprender una molécula de unión a antígeno que se une a STEAP1, junto con medios para indicar la unión de la molécula de unión a antígeno con STEAP1, si está presente, y opcionalmente los niveles de proteína STEAP1.

Las moléculas de unión a antígeno se entenderán mejor en vista de las definiciones y descripciones a continuación.

Una región "Fc" contiene dos fragmentos de cadena pesada que comprenden los dominios CH1 y CH2 de un anticuerpo. Los dos fragmentos de cadena pesada se mantienen unidos mediante dos o más enlaces disulfuro y mediante interacciones hidrófobas de los dominios CH3.

Un "fragmento Fab" comprende una cadena ligera y las regiones CH1 y variables de una cadena pesada. La cadena pesada de una molécula Fab no puede formar un enlace disulfuro con otra molécula de cadena pesada. Un "fragmento Fab" comprende una cadena ligera y una parte de una cadena pesada que contiene el dominio VH y el dominio CH1 y también la región entre los dominios CH1 y CH2, de forma tal que se pueda formar un enlace disulfuro intercadena entre las dos cadenas pesadas de dos fragmentos Fab' para formar una molécula

$F(ab')_2$. Un "fragmento $F(ab')_2$ " contiene dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas que contienen una parte de la región constante entre los dominios CH1 y CH2, de forma tal que se forme un enlace disulfuro intercadena entre las dos cadenas pesadas. Un fragmento $F(ab')_2$ por lo tanto está compuesto por dos fragmentos Fab' que se mantienen juntos mediante un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas.

5 La "región Fv" comprende las regiones variables tanto de las cadenas ligeras como de las cadenas pesadas, pero carece de las regiones constantes.

"Fragmento variable de cadena única" ("scFv", también denominado "anticuerpo de cadena única") se refiere a moléculas Fv en las que las regiones variables de las cadenas pesada y ligera se han conectado mediante un enlazador flexible para formar una única cadena polipeptídica, que forma una región de unión a antígeno. Véase la solicitud PCT WO88/01649 y
10 las patentes de EE.UU. N.º 4,946,778 y 5,260,203, cuyas divulgaciones se incorporan por referencia en su totalidad.

Una "molécula de unión a antígeno bivalente" comprende dos sitios de unión a antígeno. En algunos casos, los dos sitios de unión tienen las mismas especificidades de antígeno. Las
15 moléculas de unión a antígeno bivalente pueden ser biespecíficas. Una "molécula multiespecífica de unión a antígeno" es aquella que se dirige a más de un antígeno o epítipo. Una molécula de unión a antígeno "biespecífica", "doblemente específica" o "bifuncional" es una molécula o anticuerpo de unión a antígeno híbrida, respectivamente, que tiene dos sitios de unión a antígeno diferentes. Los dos sitios de unión de una molécula de unión a antígeno
20 biespecífica se unirán a dos epítopos diferentes, que pueden residir en las mismas o diferentes dianas proteicas.

Se dice que una molécula de unión a antígeno "se une específicamente" a su antígeno diana cuando la constante de disociación (K_d) es $\sim 1 \times 10^{-7}$ M. La molécula de unión a antígeno se une específicamente al antígeno con "alta afinidad" cuando la K_d es $1-5 \times 10^{-9}$ M, y con "muy
25 alta afinidad" cuando la K_d es $1-5 \times 10^{-10}$ M. En una modalidad, la molécula de unión al antígeno tiene una K_d de 10^{-9} M. En una modalidad, la velocidad de disociación es $< 1 \times 10^{-5}$. En otras modalidades, las moléculas de unión a antígeno se unirán a STEAP1 humana con una K_d de entre aproximadamente 10^{-7} M y 10^{-13} M y en otra modalidad más, las moléculas de unión a antígeno se unirán con una K_d $1.0-5 \times 10^{-10}$.

30 Se dice que una molécula de unión a antígeno es "selectiva" cuando se une a una diana con mayor fuerza que a una segunda diana.

El término "anticuerpo" se refiere a una inmunoglobulina intacta de cualquier isotipo, o fragmento de esta, que puede competir con el anticuerpo intacto por unión específica al antígeno diana e incluye, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, completamente humanos y
35 biespecíficos. Un "anticuerpo" es una especie de una molécula de unión a antígeno como se

define en la presente. Un anticuerpo intacto generalmente comprenderá al menos dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completa, pero en algunos casos puede incluir menos cadenas, tales como los anticuerpos de origen natural en camélidos, que pueden comprender solo cadenas pesadas. Los anticuerpos pueden proceder solamente de una fuente única, o pueden ser "quiméricos", esto es, partes diferentes del anticuerpo pueden proceder de dos anticuerpos diferentes según se describe más adelante. Las moléculas de unión a antígeno, anticuerpos o fragmentos de unión se pueden producir en hibridomas, mediante técnicas de ADN recombinante, o mediante escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. A menos que se indique lo contrario, el término "anticuerpo" incluye, además de los anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completa, derivados, variantes, fragmentos y muteínas de los mismos, cuyos ejemplos se describen a continuación. Además, a menos que se excluyan explícitamente, los anticuerpos incluyen anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos (a veces denominados en la presente como "miméticos de anticuerpos"), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, fusiones de anticuerpos (algunas veces denominados en la presente como "conjugados de anticuerpos") y fragmentos de los mismos, respectivamente.

Las regiones variables muestran normalmente la misma estructura general de regiones marco (FR) relativamente conservadas unidas mediante 3 regiones hipervariables (es decir, "CDR"). Las CDR de las dos cadenas de cada par se alinean normalmente por las regiones marco, que pueden posibilitar la unión a un epítipo específico. De N-terminal a C-terminal, las regiones variables tanto de cadena ligera como pesada comprenden normalmente los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Por convención, las regiones CDR en la cadena pesada se denominan normalmente HC CDR1, CDR2 y CDR3. Las regiones CDR en la cadena ligera se denominan normalmente LC CDR1, CDR2 y CDR3. La asignación de aminoácidos a cada dominio es normalmente de acuerdo con las definiciones de Kabat (Seqs of Proteins of Immunological Interest (NIH, Bethesda, MD (1987 y 1991)), o Chothia (J. Mol. Biol., 196:901-917 (1987); Chothia *et al.*, Nature, 342:878-883 (1989)). Se pueden emplear varios métodos de análisis para identificar o aproximar las regiones CDR, que incluyen no solo Kabat o Chothia, sino también la definición de AbM.

La expresión "cadena ligera" incluye una cadena ligera de longitud completa y fragmentos de la misma que tienen una secuencia de región variable suficiente para conferir especificidad de unión. Una cadena ligera de longitud completa incluye un dominio de región variable, V_L y un dominio de región constante, C_L. El dominio de región variable de la cadena ligera está en el extremo amino del polipéptido. Las cadenas ligeras incluyen cadenas kappa y cadenas lambda.

La expresión "cadena pesada" incluye una cadena pesada de longitud completa y fragmentos de la misma que tienen una secuencia de región variable suficiente para conferir especificidad de unión. Una cadena pesada de longitud completa incluye un dominio de región variable, V_H y tres dominios de región constante CH_1 , CH_2 y CH_3 . El dominio V_H se encuentra en el extremo amino del polipéptido y los dominios C_H se encuentran en el extremo carboxilo siendo el CH_3 el más próximo al extremo carboxilo del polipéptido. Las cadenas pesadas pueden ser de cualquier isotipo, incluyendo IgG (incluyendo los subtipos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), IgA (incluyendo los subtipos IgA1 e IgA2), IgM e IgE.

La expresión "región variable" o "dominio variable" se refiere a una porción de las cadenas ligeras y/o pesadas de un anticuerpo que incluye normalmente aproximadamente los 120 a 130 aminoácidos amino-terminales en la cadena pesada y aproximadamente los 100 a 110 aminoácidos amino-terminales en la cadena ligera. La región variable de un anticuerpo determina normalmente la especificidad de un anticuerpo particular por su diana.

La variabilidad no está distribuida uniformemente a través de los dominios variables de anticuerpos; se concentra en subdominios de cada una de las regiones variables de cadena ligera y pesada. Estos subdominios se denominan "regiones hipervariables" o "regiones determinantes de la complementariedad" (CDR). Las partes más conservadas (es decir, no hipervariables) de los dominios variables se denominan las regiones "marco" (FRM o FR) y proporcionan un andamiaje para las seis CDR en el espacio tridimensional para formar una superficie de unión a antígeno. Cada uno de los dominios variables de cadenas pesada y ligera de origen natural comprende cuatro regiones FRM (FR1, FR2, FR3 y FR4), y adopta en gran medida una configuración de lámina β conectada por tres regiones hipervariables que forman bucles que conectan y, en algunos casos, forman parte de la estructura de lámina β . Las regiones hipervariables de cada cadena se mantienen juntas y próximas entre sí mediante las FRM y, junto con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión a antígeno (véase Kabat et al. loc. cit.).

El término "CDR", y su plural las "CDR", se refiere a la región determinante de complementariedad de las cuales tres conforman el carácter de unión de una región variable de cadena ligera (CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3) y tres conforman el carácter de unión de una región variable de cadena pesada (CDRH1, CDR-H2 y CDR-H3). Las CDR contienen la mayoría de los restos responsables de las interacciones específicas del anticuerpo con el antígeno y, por lo tanto, contribuyen con la actividad funcional de una molécula de anticuerpo: son los principales determinantes de especificidad de antígeno.

Los límites y longitudes de CDR de definición exactos son sujetos a una clasificación diferente y a sistemas de numeración. Por lo tanto, las CDR pueden contemplarse en Kabat, Chothia, contacto o cualquier otra definición de límites, que incluye el sistema de numeración

descrito en la presente. A pesar de los límites diferentes, cada uno de estos sistemas tiene algún grado de solapamiento en lo que constituye las tan denominadas "regiones hipervariables" dentro de las secuencias variables. Por lo tanto, las definiciones de CDR de conformidad con estos sistemas difieren en áreas de longitud y límites con respecto a la región marco adyacente. Véase, por ejemplo, Kabat (un enfoque que se basa en la variabilidad de secuencia entre especies), Chothia (un enfoque que se basa en estudios cristalográficos de complejos de anticuerpo y antígeno) y/o MacCallum (Kabat et al., loc. cit.; Chothia et al., J. Mol. Biol, 1987, 196: 901-917; y MacCallum et al., J. Mol. Biol, 1996, 262: 732). Otro estándar para caracterizar el sitio de unión al antígeno es la definición de AbM utilizada por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular. Véase, p. ej., Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. En: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. y Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). En la medida en que dos técnicas de identificación de restos definen las regiones de superposición, pero no las regiones idénticas, se pueden combinar para definir una CDR híbrida. Sin embargo, se prefiere la numeración de conformidad con el tan denominado sistema Kabat.

Normalmente, las CDR forman una estructura de bucle que se puede clasificar como una estructura canónica. La expresión "estructura canónica" se refiere a la conformación de cadena principal que es adoptada por los bucles de unión a antígeno (CDR). A partir de estudios estructurales comparativos, se ha descubierto que cinco de los seis bucles de unión a antígeno tienen solo un repertorio limitado de conformaciones disponibles. Cada estructura canónica se puede caracterizar por los ángulos de torsión de la estructura principal polipeptídica. Los bucles correspondientes entre anticuerpos pueden, por lo tanto, tener estructuras tridimensionales muy similares, a pesar de la variabilidad de secuencia de aminoácidos elevada en la mayoría de las partes de los bucles (Chothia y Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia et al., Nature, 1989, 342: 877; Martin y Thornton, J. Mol. Biol, 1996, 263: 800). Además, existe una relación entre la estructura de bucle adoptada y las secuencias de aminoácidos que la rodea. La conformación de una clase canónica particular es determinada por la longitud del bucle y los restos de aminoácidos que se alojan en posiciones claves dentro del bucle, así como dentro del marco conservado (es decir, fuera del bucle). La asignación a una clase canónica particular por lo tanto se puede realizar basándose en la presencia de estos restos de aminoácidos claves.

El término "estructura canónica" también puede incluir consideraciones en cuanto a la secuencia lineal del anticuerpo, por ejemplo, según lo catalogado por Kabat (Kabat et al., loc. cit.). El esquema de numeración de Kabat (sistema) es un estándar ampliamente adoptado para la numeración de los restos de aminoácidos de un dominio variable de anticuerpos de forma coherente y es el esquema preferido aplicado en la presente invención como también se menciona en otras partes de la presente. También se pueden utilizar consideraciones

estructurales adicionales para determinar la estructura canónica de un anticuerpo. Por ejemplo, las diferencias no reflejadas completamente por la numeración Kabat pueden ser descritas por el sistema de numeración de Chothia et al. y/o descritas por otras técnicas, por ejemplo, la cristalografía y el modelado computacional bidimensional o tridimensional. Por consiguiente, una secuencia de anticuerpos determinada se puede colocar en una clase canónica que permite, entre otras cosas, identificar secuencias de chasis apropiadas (por ejemplo, basadas en el deseo de incluir una variedad de estructuras canónicas en una biblioteca). La numeración Kabat de las secuencias de aminoácidos de anticuerpos y las consideraciones estructurales descritas por Chothia et al., loc. cit. y sus implicaciones para la interpretación de los aspectos canónicos de la estructura de los anticuerpos, se describen en la bibliografía. Se conocen en la técnica las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas. Para obtener un análisis de la estructura de los anticuerpos, véase *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988.

La CDR3 de la cadena ligera y, particularmente, la CDR3 de la cadena pesada pueden constituir los determinantes más importantes en la unión al antígeno dentro de las regiones variables de cadena pesada y ligera. En algunos constructos de anticuerpo, la cadena pesada CDR3 parece conformar la mayor área de contacto entre el antígeno y el anticuerpo. Los esquemas de selección in vitro en los que el CDR3 solo varía pueden utilizarse para modificar las propiedades de unión de un anticuerpo o determinar qué restos contribuyen a la unión de un antígeno. Por lo tanto, la CDR3 es normalmente la mayor fuente de diversidad molecular en el sitio de unión a anticuerpo. Por ejemplo, H3 puede ser tan corto como de dos restos de aminoácidos o tener más de 26 aminoácidos.

El término "neutralizante" se refiere a una molécula de unión a antígeno, scFv o anticuerpo, respectivamente, que se une a un ligando y previene o reduce el efecto biológico de ese ligando. Esto puede hacerse, por ejemplo, mediante el bloqueo directamente de un sitio de unión en el ligando o mediante la unión al ligando y mediante la alteración de la capacidad del ligando para unirse por medios indirectos (tales como alteraciones estructurales o energéticas en el ligando). En algunas modalidades, el término también puede denotar una molécula de unión a antígeno que evita que la proteína a la que está unida realice una función biológica.

El término "diana" o "antígeno" se refiere a una molécula o una porción de una molécula capaz de unirse a una molécula de unión a antígeno. En determinadas modalidades, una diana puede tener uno o más epítopos.

El término "competir" cuando se usa en el contexto de moléculas de unión a antígeno que compiten por el mismo epítipo significa competencia entre moléculas de unión a antígeno según lo determinado por un ensayo en el que la molécula de unión a antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional del mismo) que se está probando previene

o inhibe (por ejemplo, reduce) la unión específica de una molécula de unión a antígeno de referencia a un antígeno. Se pueden usar numerosos tipos de ensayos de unión competitiva para determinar si una molécula de unión a antígeno compite con otra, por ejemplo, radioinmunoensayo directo o indirecto en fase sólida (RIA), inmunoensayo enzimático directo o indirecto en fase sólida (EIA), ensayo de competencia de tipo sándwich (Stahli *et al.*, 1983, Methods in Enzymology 9:242-253); EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (Kirkland *et al.*, 1986, J. Immunol. 137:3614-3619), ensayo marcado directo en fase sólida, ensayo de tipo sándwich marcado directo en fase sólida (Harlow y Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); RIA de marcador directo en fase sólida usando el marcador 1-125 (Morel *et al.*, 1988, Molec. Immunol. 25:7-15); EIA de biotina-avidina directo en fase sólida (Cheung, *et al.*, 1990, Virology 176:546-552); y RIA marcado directo (Moldenhauer *et al.*, 1990, Scand. J. Immunol. 32:77-82). El término "epítipo" incluye cualquier determinante capaz de unirse a una molécula de unión a antígeno, tal como un scFv, un anticuerpo o una célula inmunitaria de la invención. Un epítipo es una región de un antígeno que está unida por una molécula de unión a antígeno que se dirige a ese antígeno, y cuando el antígeno es una proteína, incluye aminoácidos específicos que se ponen en contacto directamente con la molécula de unión a antígeno.

Como se usa en la presente, los términos "marcador" o "marcado" se refieren a la incorporación de un marcador detectable, por ejemplo, mediante la incorporación de un aminoácido radiomarcado o la unión a un polipéptido de fracciones de biotina que puede detectarse mediante avidina marcada (por ejemplo, estreptavidina que contiene un marcador fluorescente o actividad enzimática que puede detectarse mediante métodos ópticos o colorimétricos). En determinadas modalidades, la etiqueta o marcador también puede ser terapéutico. Se conocen varios métodos para marcar polipéptidos y glucoproteínas en la técnica y se pueden usar.

De acuerdo con la invención, las técnicas de encendido y apagado u otros tipos de interruptores de control pueden incorporarse en la presente. Estas técnicas pueden emplear el uso de dominios de dimerización y activadores opcionales de dicha dimerización de dominio. Estas técnicas incluyen, *por ejemplo*, las descritas por Wu *et al.*, *Science* 2014 350 (6258) que utilizan sistemas de dimerización FKBP/Rapalog en determinadas células, cuyos contenidos se incorporan en la presente como referencia en su totalidad. La tecnología de dimerización adicional se describe, *por ejemplo*, en Fegan *et al.* *Chem. Rev.* 2010, 110, 3315–3336 así como en las patentes de EE.UU. N.º 5,830,462; 5,834,266; 5,869,337; y 6,165,787, cuyos contenidos también se incorporan en la presente como referencia en su totalidad. Los pares de dimerización adicionales pueden incluir ciclosporina A/ciclofilina, receptor, estrógeno/receptor de estrógeno (opcionalmente con tamoxifeno), glucocorticoides/receptor de glucocorticoides,

tetraciclina/receptor de tetraciclina, vitamina D/receptor de vitamina D. Se pueden encontrar ejemplos adicionales de tecnología de dimerización en, *por ejemplo*, los documentos WO 2014/127261, WO 2015/090229, US 2014/0286987, US 2015/0266973, US 2016/0046700, la patente de EE.UU. N.º 8,486,693, US 2014/0171649 y US 2012/0130076, cuyos contenidos se incorporan además como referencia en la presente en su totalidad.

5

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

10

Usando la inmunoterapia adoptiva, las células T naturales pueden ser (i) eliminadas de un paciente, (ii) modificadas genéticamente para expresar un receptor quimérico para antígeno (CAR) que se une a al menos un antígeno tumoral (iii) expandidas *ex vivo* en una población más grande de células T modificadas por ingeniería genética, y (iv) reintroducidas en el paciente. Véase, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N.º 7,741,465 y 6,319,494, Eshhar *et al.* (Cancer Immunol, *supra*); Krause *et al.* (*supra*); Finney *et al.* (*supra*). Después de que las células T modificadas por ingeniería genética se reintroducen en el paciente, median una respuesta inmunitaria contra las células que expresan el antígeno tumoral. Véase, por ejemplo, Krause *et al.*, J. Exp. Med., Volumen 188, N.º 4, 1998 (619–626). Esta respuesta inmunitaria incluye la secreción de IL-2 y otras citocinas por parte de las células T, la expansión clonal de las células T que reconocen el antígeno tumoral y la destrucción específica mediada por células T de células positivas para la diana. Véase Hombach *et al.*, Journal of Immun. 167: 6123-6131 (2001).

15

20

En algunos aspectos, la invención comprende, por lo tanto, un método para tratar o prevenir una afección asociada con niveles de STEAP1 no deseados y/o elevados en un paciente, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de al menos una molécula de unión a antígeno aislada, CAR, o TCR desvelados en la presente.

25

30

Se proporcionan métodos para tratar enfermedades o trastornos, incluido el cáncer. En algunas modalidades, la invención se refiere a crear una respuesta inmunitaria mediada por células T en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz de las células inmunitarias modificadas por ingeniería genética de la presente solicitud al sujeto. En algunas modalidades, la respuesta inmunitaria mediada por células T se dirige contra una célula o células diana. En algunas modalidades, la célula inmunitaria modificada por ingeniería genética comprende un receptor quimérico para antígeno (CAR), o un receptor de células T (TCR). En algunas modalidades, la célula diana es una célula tumoral. En algunos aspectos, la invención comprende un método para tratar o prevenir un tumor maligno, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de al menos una molécula de unión a antígeno aislada descrita en la presente. En algunos aspectos, la invención comprende un método para tratar o prevenir un tumor maligno, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de al menos una célula inmunitaria, en donde la célula

35

inmunitaria comprende al menos un receptor quimérico para antígeno, un receptor de células T y/o una molécula de unión a antígeno aislada como se describe en la presente.

En algunos aspectos, la invención comprende una composición farmacéutica que comprende al menos una molécula de unión a antígeno como se describe en la presente y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende además un agente activo adicional.

Las moléculas de unión a antígeno, CAR, TCR, células inmunitarias y similares de la invención se pueden usar para tratar enfermedades que expresan STEAP1, que incluyen, pero no se limitan a, cáncer de próstata, y en una modalidad preferida, en cáncer de próstata metastásico resistente a la castración.

Se apreciará que las dosis diana para las células CAR⁺/T-CAR⁺/TCR⁺ pueden variar de 1×10^6 a 2×10^{10} células/kg, preferentemente 2×10^6 células/kg, más preferentemente. Se apreciará que las dosis por encima y por debajo de este intervalo pueden ser apropiadas para determinados sujetos, y el proveedor de atención médica puede determinar los niveles de dosis apropiados según sea necesario. Adicionalmente, se pueden proporcionar múltiples dosis de células de acuerdo con la invención.

También se proporcionan métodos para reducir el tamaño de un tumor en un sujeto, que comprenden administrar al sujeto una célula modificada por ingeniería genética de la presente invención al sujeto, en donde la célula comprende un receptor quimérico para antígeno, un receptor de células T o un receptor quimérico para antígeno basado en el receptor de células T que comprende una molécula de unión a antígeno que se une a un antígeno en el tumor. En algunas modalidades, el sujeto tiene un tumor sólido, o un tumor maligno de la sangre, como un linfoma o leucemia. En algunas modalidades, la célula modificada por ingeniería genética se suministra a un lecho tumoral. En algunas modalidades, el cáncer está presente en la médula ósea del sujeto.

En algunas modalidades, las células modificadas por ingeniería genética son células T autólogas. En algunas modalidades, las células modificadas por ingeniería genética son células T alogénicas. En algunas modalidades, las células modificadas por ingeniería genética son células T heterólogas. En algunas modalidades, las células modificadas por ingeniería genética de la presente solicitud se transfectan o transducen *in vivo*. En otras modalidades, las células modificadas por ingeniería genética se transfectan o transducen *ex vivo*.

Los métodos pueden comprender además administrar uno o más agentes quimioterapéuticos. En determinadas modalidades, el agente quimioterapéutico es un quimioterapéutico (precondicionamiento) de linfodepletado. Los regímenes de tratamiento de preacondicionamiento beneficioso, junto con biomarcadores beneficiosos correlativos se describen en las Solicitudes de Patente Provisional de EE.UU. 62/262,143 y 62/167,750 que se

incorporan al presente documento como referencia en su totalidad en la presente. Estos describen, *por ejemplo*, métodos para acondicionar a un paciente que necesita una terapia con células T que comprende administrar al paciente dosis beneficiosas especificadas de ciclofosfamida (entre 200 mg/m²/día y 2000 mg/m²/día) y dosis específicas de fludarabina (entre 20 mg/m²/día y 900 mg/m²/día). Un régimen de dosis preferido que implica tratar a un paciente comprende administrar diariamente al paciente aproximadamente 500 mg/m²/día de ciclofosfamida y aproximadamente 60 mg/m²/día de fludarabina durante tres días antes de la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de células T modificadas por ingeniería genética al paciente.

En otras modalidades, la molécula de unión a antígeno, las células transducidas (o modificadas por ingeniería genética) (tales como CAR o TCR), y el agente quimioterapéutico se administran cada uno en una cantidad eficaz para tratar la enfermedad o afección en el sujeto.

En determinadas modalidades, las composiciones que comprenden células efectoras inmunitarias que expresan CAR desveladas en la presente pueden administrarse junto con cualquier número de agentes quimioterapéuticos. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXANTM); alquilsulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocuna, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilmelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetillolomelamina; mostazas de nitrógeno, tales como clorambucilo, clornafazina, ciclofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliceamicina, carabicina, carminomicina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puomicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, 5-FU; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; antiadrenérgicos tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor del ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona;

glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfomitina; acetato de eliptinio; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxíurea; lentinan; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK®; razoxana; sizofirán; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo paclitaxel (TAXOL™, Bristol-Myers Squibb) y doxetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer); clorambucil; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; navelbine; novantrona; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS2000; difluorometilomitina (DMFO); derivados de ácido retinoico tales como Targretin™ (bexarotene), Panretin™, (alitretinoin); ONTAK™ (denileukin diftotox); esperamicinas; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se incluyen en esta definición los agentes antihormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en tumores como los antiestrógenos, que incluyen, por ejemplo, el tamoxifeno, raloxifeno, 4(5)-imidazoles que inhiben la aromatasa, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (Fareston); y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se administran combinaciones de agentes quimioterapéuticos cuando sea apropiado, que incluyen, pero sin limitación, CHOP, es decir, Ciclofosfamida (Cytosan®), Doxorubicina (hidroxidoxorrubicina), Vincristina (Oncovin®) y Prednisona.

En algunas modalidades, el agente quimioterapéutico se administra al mismo tiempo o dentro de una semana después de la administración de la célula o el ácido nucleico modificado por ingeniería genética. En otras modalidades, el agente quimioterapéutico se administra de 1 a 4 semanas o de 1 semana a 1 mes, de 1 semana a 2 meses, de 1 semana a 3 meses, de 1 semana a 6 meses, de 1 semana a 9 meses o de 1 semana a 12 meses después de la administración de la célula o ácido nucleico modificado por ingeniería genética. En otras modalidades, el agente quimioterapéutico se administra al menos 1 mes antes de administrar la célula o el ácido nucleico. En algunas modalidades, los métodos comprenden además administrar dos o más agentes quimioterapéuticos.

Se puede usar una variedad de agentes terapéuticos adicionales junto con las composiciones descritas en la presente. Por ejemplo, los agentes terapéuticos adicionales potencialmente útiles incluyen inhibidores de PD-1 como nivolumab (Opdivo®), pembrolizumab

(Keytruda®), pembrolizumab, pidilizumab y atezolizumab, e inhibidores de CTLA-4, como ipilimumab (Yervoy®).

Agentes terapéuticos adicionales adecuados para su uso en combinación con la invención incluyen, pero no se limitan a, acetato de abiraterona, apalutamida, bicalutamida, cabazitaxel, casodex (bicalutamida), degarelix, docetaxel, enzalutamida, Erleada® (apalutamida), flutamida, goserelina acetato, Jevtana® (cabazitaxel), acetato de leuprolida, Lupron® (acetato de leuprolida), Lupron Depot (acetato de leuprolida), Lupron Depot-Ped (acetato de leuprolida), clorhidrato de mitoxantrona, Nilandron® (nilutamida), nilutamida, Provenge® (Sipuleucel-T), dicloruro de radio 223, sipuleucel-T, taxotere (docetaxel), Viadur (acetato de leuprolida), Xofigo (dicloruro de radio 223), Xtandi (enzalutamida), Zoladex (acetato de goserelina) o Zytiga (acetato de abiraterona).

En modalidades adicionales, la composición que comprende inmunitaria que contiene CAR puede administrarse con un agente antiinflamatorio. Los agentes o fármacos antiinflamatorios incluyen, pero no se limitan a, esteroides y glucocorticoides (incluidos betametasona, budesonida, dexametasona, acetato de hidrocortisona, hidrocortisona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, triamcinolona), fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE) que incluyen aspirina, ibuprofeno, naproxeno, metotrexato, sulfasalazina, leflunomida, medicamentos anti-TNF, ciclofosfamida y micofenolato. Los AINE ejemplares incluyen ibuprofeno, naproxeno, naproxeno sódico, inhibidores de Cox-2 y sialilatos. Los analgésicos ejemplares incluyen paracetamol, oxicodona, tramadol de clorhidrato de proporxifeno. Los glucocorticoides ejemplares incluyen cortisona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona o prednisona. Los modificadores de la respuesta biológica ejemplares incluyen moléculas dirigidas contra marcadores de la superficie celular (por ejemplo, CD4, CD5, etc.), inhibidores de citocinas, tales como los antagonistas del TNF, (por ejemplo, etanercept (ENBREL®), adalimumab (HUMIRA®) e infliximab (REMICADE®), inhibidores de quimiocinas e inhibidores de moléculas de adhesión. Los modificadores de la respuesta biológica incluyen anticuerpos monoclonales, así como formas recombinantes de moléculas. Los DMARD ejemplares incluyen azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina, metotrexato, penicilamina, leflunomida, sulfasalazina, hidroxicloroquina, oro (oral (auranofina) e intramuscular) y minociclina.

En determinadas modalidades, las composiciones descritas en la presente se administran junto con una citocina. "Citocina", como se usa en la presente, se refiere a las proteínas liberadas por una población celular que actúa sobre otra célula como mediadores intercelulares. Ejemplos de citocinas son las linfoquinas, las monocinas y las hormonas polipeptídicas tradicionales. Entre las citocinas se incluyen las hormonas de crecimiento, tal como la hormona de crecimiento humano, la hormona de crecimiento humano N-metionilo y la

hormona de crecimiento bovino; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorelaxina; hormonas glucoproteínas como la hormona estimulante del folículo (FSH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y hormona luteinizante (LH); factor de crecimiento hepático (HGF); factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); prolactina; lactógeno placentario; sustancia inhibidora muleriana; péptido asociado a gonadotropina de ratón; inhibina; activina; factor de crecimiento vascular endotelial; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento nervioso (NGF), tales como NGF-beta; factor de crecimiento plaquetario; factores de crecimiento transformante (TGF), tales como TGF-alfa y TGF-beta; factor I y II de crecimiento similar a la insulina; eritropoyetina (EPO); factores osteoinductivos; interferones tales como interferón alfa, beta y gamma; factores estimulantes de colonias (CSF) tales como macrófagos-CSF (M-CSF); granulocitos-macrófagos-CSF (GM-CSF); y granulocitos-CSF (G-CSF); interleucinas (ILs) tales como IL-1, IL-1alfa, 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 incluyendo LIF y ligando kit (KL). Como se usa en la presente, el término citocina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivos de células recombinantes, y equivalentes biológicamente activos de las citocinas de secuencia natural.

En algunos aspectos, la invención comprende una molécula de unión a antígeno que se une a STEAP1 con una K_d que es menor que 100 pM. En algunas modalidades, la molécula de unión a antígeno se une con una K_d que es menor que 10 pM. En otras modalidades, la molécula de unión a antígeno se une con una K_d que es inferior a 5 pM.

MÉTODOS DE ELABORACIÓN

Se puede utilizar una variedad de técnicas conocidas para elaborar los polinucleótidos, polipéptidos, vectores, moléculas de unión a antígeno, células inmunitarias, composiciones y similares de acuerdo con la invención.

Antes de la manipulación *in vitro* o modificación genética de las células inmunitarias descritas en la presente, las células pueden obtenerse de un sujeto. En algunas modalidades, las células inmunitarias comprenden células T. Las células T pueden obtenerse de varias fuentes, incluidas células mononucleares de sangre periférica (PBMC), médula ósea, tejido de los ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo y tumores. En determinadas modalidades, las células T pueden obtenerse a partir de una unidad de sangre recogida del sujeto usando cualquier número de técnicas conocidas por el experto en la materia, tales como la separación con FICOLL™. Las células pueden obtenerse preferentemente de la sangre en circulación de un individuo mediante aféresis. El producto de la aféresis contiene normalmente linfocitos, incluidas las células T, monocitos, granulocitos, células B, otros glóbulos blancos nucleados, glóbulos rojos y plaquetas. En determinadas modalidades, las células recogidas mediante aféresis pueden

lavarse para eliminar la fracción plasmática y colocarse en un tampón o medio apropiado para su posterior procesamiento. Las células se pueden lavar con PBS. Como se apreciará, se puede usar una etapa de lavado, tal como mediante el uso de una centrífuga de flujo semiautomático, por ejemplo, el procesador de células Cobe™ 2991, el Baxter CytoMate™ o similares. Después del lavado, las células pueden resuspenderse en una variedad de tampones biocompatibles, u otra solución salina con o sin tampón. En determinadas modalidades, los componentes no deseados de la muestra de aféresis pueden eliminarse.

En determinadas modalidades, las células T se aíslan de las PBMC mediante el lisado de los glóbulos rojos y el agotamiento de los monocitos, por ejemplo, usando centrifugación a través de un gradiente PERCOLL™. Una subpoblación específica de células T, tales como las células T CD28⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺ y CD45RO⁺ se pueden aislar adicionalmente mediante técnicas de selección positiva o negativa conocidas en la materia. Por ejemplo, el enriquecimiento de una población de células T por selección negativa se puede lograr con una combinación de anticuerpos dirigidos a marcadores de superficie únicos para las células seleccionadas negativamente. Un método para su uso en la presente es la clasificación y/o selección de células mediante inmunoadherencia magnética negativa o citometría de flujo que utiliza un cóctel de anticuerpos monoclonales dirigidos a marcadores de superficie celular presentes en las células seleccionadas negativamente. Por ejemplo, para enriquecer las células CD4⁺ por selección negativa, un cóctel de anticuerpos monoclonales incluye normalmente anticuerpos contra CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR y CD8. La citometría de flujo y la clasificación de células también se pueden usar para aislar poblaciones de células de interés para su uso en la presente invención.

Las PBMC se pueden usar directamente para la modificación genética con las células inmunitarias (como los CAR o TCR) utilizando los métodos descritos en la presente. En determinadas modalidades, después de aislar las PBMC, los linfocitos T pueden aislarse aún más y tanto los linfocitos T citotóxicos como los auxiliares pueden clasificarse en subpoblaciones de células T sin exposición previa, de memoria y efectoras antes o después de la modificación genética y/o expansión.

En algunas modalidades, las células CD8⁺ se clasifican además en células sin exposición previa, de memoria central y efectoras mediante la identificación de antígenos de la superficie celular que están asociados con cada uno de estos tipos de células CD8⁺. En algunas modalidades, la expresión de marcadores fenotípicos de células T de memoria central incluye CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 y CD127 y son negativas para la granzima B. En algunas modalidades, las células T de memoria central son células T CD45RO⁺, CD62L⁺, CD8⁺. En algunas modalidades, las células T efectoras son negativas para CD62L, CCR7, CD28 y CD127, y positivas para granzima B y perforina. En determinadas modalidades, las células T CD4⁺ se

clasifican además en subpoblaciones. Por ejemplo, las células T auxiliares CD4⁺ se pueden clasificar en células sin exposición previa, memoria central y efectoras mediante la identificación de poblaciones celulares que tienen antígenos de la superficie celular.

Las células inmunitarias, tales como las células T, pueden modificarse genéticamente después del aislamiento utilizando métodos conocidos, o las células inmunitarias pueden activarse y expandirse (o diferenciarse en el caso de las progenitoras) *in vitro* antes de ser modificadas genéticamente. En otra modalidad, las células inmunitarias, tales como las células T, se modifican genéticamente con los receptores quiméricos para antígenos descritos en la presente (por ejemplo, se transducen con un vector viral que comprende una o más secuencias de nucleótidos que codifican un CAR) y luego se activan y/o expanden *in vitro*. Los métodos para activar y expandir las células T se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N.º 6,905,874; la patente de EE.UU. N.º 6,867,041; la patente de EE.UU. N.º 6,797,514; y el documento PCT WO2012/079000, cuyos contenidos se incorporan al presente documento como referencia en su totalidad. En general, dichos métodos incluyen poner en contacto PBMC o células T aisladas con un agente estimulante y un agente coestimulador, tal como los anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28, generalmente unidos a una perla u otra superficie, en un medio de cultivo con citocinas apropiadas, tal como IL-2. Los anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 unidos a la misma perla sirven como una célula presentadora de antígeno (APC) "sustituto". Un ejemplo es el sistema Dynabeads®, un sistema estimulador/activador de CD3/CD28 para la activación fisiológica de células T humanas.

En otras modalidades, las células T pueden activarse y estimularse para proliferar con células alimentadoras y anticuerpos y citocinas apropiadas usando métodos tales como los descritos en la Patente de EE.UU. N.º 6,040,177; la patente de EE.UU. N.º 5,827,642; y el documento WO2012129514, cuyos contenidos se incorporan al presente documento como referencia en su totalidad.

En la solicitud PCT/US15/14520 se describen determinados métodos para elaborar los constructos y las células inmunitarias modificadas por ingeniería genética de la invención, cuyos contenidos se incorporan al presente documento como referencia en su totalidad. Se pueden encontrar métodos adicionales para elaborar los constructos y células en la solicitud de patente provisional de EE.UU. N.º 62/244036 cuyos contenidos se incorporan al presente documento como referencia en su totalidad.

Se apreciará que las PBMC pueden incluir además otros linfocitos citotóxicos tales como células NK o células NKT. Un vector de expresión que lleva la secuencia codificante de un receptor quimérico como se desvela en la presente puede introducirse en una población de células T, células NK o células NKT de donante humano. Las células T transducidas con éxito que llevan el vector de expresión pueden clasificarse mediante citometría de flujo para aislar

células T positivas para CD3 y luego propagarse adicionalmente para aumentar el número de estas células T que expresan CAR además de la activación celular utilizando anticuerpos anti-CD3 e IL-2 u otros métodos conocidos en la técnica como se describe en otra parte en la presente. Los procedimientos estándar se utilizan para la crioconservación de células T que expresan el CAR para su almacenamiento y/o preparación para su uso en un sujeto humano.

5 En una modalidad, la transducción, el cultivo y/o la expansión *in vitro* de las células T se realizan en ausencia de productos procedentes de animales no humanos tales como suero de ternera fetal y suero bovino fetal.

Para la clonación de polinucleótidos, el vector puede introducirse en una célula hospedadora (una célula hospedadora aislada) para permitir la replicación del propio vector y, de ese modo, amplificar las copias del polinucleótido contenido en la misma. Los vectores de clonación pueden contener componentes de secuencia que generalmente incluyen, sin limitación, un origen de replicación, secuencias promotoras, secuencias de iniciación de la transcripción, secuencias potenciadoras y marcadores seleccionables. Estos elementos pueden seleccionarse según sea apropiado por una persona con experiencia ordinaria en la técnica.

10

15 Por ejemplo, el origen de la replicación se puede seleccionar para promover la replicación autónoma del vector en la célula hospedadora.

En determinadas modalidades, la presente divulgación proporciona células hospedadoras aisladas que contienen el vector proporcionado en la presente. Las células hospedadoras que contienen el vector pueden ser útiles en la expresión o clonación del polinucleótido contenido en el vector. Las células hospedadoras adecuadas pueden incluir, sin limitación, células procariotas, células fúngicas, células de levadura o células eucariotas superiores tales como células de mamíferos. Las células procariotas adecuadas para este propósito incluyen, sin limitación, eubacterias, tales como organismos Gram-negativos o Gram-positivos, por ejemplo, Enterobactehaceae tales como Escherichia, por ejemplo, E. coli, Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Proteus, Salmonella, por ejemplo, Salmonella typhimurium, Serratia, por ejemplo, Serratia marcescans, y Shigella, así como bacilos tales como B. subtilis y B. licheniformis, Pseudomonas como P. aeruginosa y Streptomyces.

20

25

El vector se puede introducir en la célula hospedadora utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica, que incluye, sin limitación, el suministro mediado por DEAE-dextrano, el método de precipitado de fosfato de calcio, el suministro mediado por lípidos catiónicos, la transfección mediada por liposomas, la electroporación, el bombardeo de microproyectiles, el suministro de genes mediado por receptor, el suministro mediado por polilisina, histona, quitosano y péptidos. Los métodos estándar para la transfección y transformación de células para la expresión de un vector de interés son bien conocidos en la técnica. En una modalidad adicional, se puede usar una mezcla de diferentes vectores de

30

35

expresión para modificar genéticamente una población donante de células efectoras inmunitarias en la que cada vector codifica un CAR diferente como se desvela en la presente. Las células efectoras inmunitarias transducidas resultantes forman una población mixta de células modificadas por ingeniería genética, con una proporción de las células modificadas por ingeniería genética que expresan más de un CAR diferente.

5 En una modalidad, la invención proporciona un método para almacenar células modificadas genéticamente que expresan CAR o TCR que se dirigen a una proteína STEAP1. Esto implica la crioconservación de las células inmunitarias de modo que las células permanezcan viables al descongelarse. Una fracción de las células inmunitarias que expresan los CAR se puede crioconservar mediante métodos conocidos en la técnica para proporcionar
10 una fuente permanente de dichas células para el tratamiento futuro de pacientes afectados por una enfermedad maligna. Cuando sea necesario, las células inmunitarias transformadas crioconservadas pueden descongelarse, crecer y expandirse para más células de este tipo.

Como se usa en la presente, "crioconservación" se refiere a la preservación de las células mediante el enfriamiento a temperaturas bajo cero, como (normalmente) 77 Kelvin o -
15 196 °C (el punto de ebullición del nitrógeno líquido). Los agentes crioprotectores se usan a menudo a temperaturas bajo cero para evitar que las células se preserven del daño debido a la congelación a bajas temperaturas o al calentamiento a temperatura ambiente. Los agentes crioconservantes y las velocidades de enfriamiento óptimas pueden proteger contra las lesiones celulares. Los agentes crioprotectores que se pueden usar de acuerdo con la invención incluyen,
20 pero no se limitan a: dimetilsulfóxido (DMSO) (Lovelock y Bishop, Nature (1959); 183: 1394-1395; Ashwood-Smith, Nature (1961); 190: 1204-1205), glicerol, polivinilpirrolidina (Rinfret, Ann. N.Y. Acad. Sci. (1960); 85: 576), y polietilenglicol (Sloviter & Ravdin, Nature (1962); 196: 48). La velocidad de enfriamiento preferida es de 1 ° - 3 °C/minuto.

La expresión "sustancialmente puro" se usa para indicar que un componente dado está
25 presente en un nivel alto. El componente es deseablemente el componente predominante presente en una composición. Preferentemente, está presente a un nivel de más del 30 %, de más del 50 %, de más del 75 %, de más del 90 %, o incluso de más del 95 %, determinándose dicho nivel sobre un peso seco/base de peso seco con respecto a la composición total en consideración. En niveles muy altos (por ejemplo, en niveles de más del 90 %, de más del 95
30 % o de más del 99 %) se puede considerar que el componente está en "forma pura". Las sustancias biológicamente activas de la presente invención (incluidos polipéptidos, moléculas de ácido nucleico, moléculas de unión a antígeno, fracciones) pueden proporcionarse en una forma que esté sustancialmente libre de uno o más contaminantes con los que la sustancia podría estar asociada de otro modo. Cuando una composición está sustancialmente libre de un

contaminante dado, el contaminante estará en un nivel bajo (*por ejemplo*, a un nivel inferior al 10 %, inferior al 5 % o inferior al 1 % sobre el peso seco/base de peso seco establecido arriba).

En algunas modalidades, las células se formulan mediante su recolección primero de su medio de cultivo, y luego el lavado y concentración de las células en un medio y un sistema de recipiente adecuado para la administración (un vehículo "farmacéuticamente aceptable") en una cantidad eficaz en el tratamiento. Los medios de infusión adecuados pueden ser cualquier formulación de medio isotónico, normalmente solución salina normal, Normosol™ R (Abbott) o Plasma-Lyte™ A (Baxter), pero también puede utilizarse dextrosa al 5 % en agua o lactato de Ringer. El medio de infusión se puede complementar con seroalbúmina humana.

Las cantidades de tratamiento deseadas de las células en la composición son generalmente al menos 2 células (por ejemplo, al menos 1 célula T de memoria central CD8⁺ y al menos 1 subgrupo de células T auxiliares CD4⁺) o es más normalmente mayor que 10² células, y hasta 10⁶, hasta e incluyendo 10⁸ o 10⁹ células y pueden ser más de 10¹⁰ células. El número de células dependerá del uso deseado para el que se destine la composición y el tipo de células incluidas en la misma. La densidad de las células deseadas es normalmente mayor que 10⁶ células/ml y generalmente es mayor que 10⁷ células/ml, generalmente 10⁸ células/ml o mayor. El número clínicamente relevante de células inmunitarias puede repartirse en infusiones múltiples de acumulativamente igual o superior a 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹, 10¹⁰, 10¹¹, o 10¹² células. En algunos aspectos de la presente invención, particularmente dado que todas las células infundidas se redireccionarán a un antígeno diana particular (STEAP1), se pueden administrar números más bajos de células, en el intervalo de 10⁶/kilogramo (10⁶-10¹¹ por paciente). Los tratamientos con CAR pueden administrarse varias veces en dosis dentro de estos intervalos. Las células pueden ser autólogas, alogénicas o heterólogas para el paciente sometido a terapia.

Las poblaciones de células que expresan CAR de la presente invención pueden administrarse solas o como una composición farmacéutica en combinación con diluyentes y/o con otros componentes tales como IL-2 u otras citocinas o poblaciones celulares. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender una población de células que expresan CAR o TCR, tales como células T, como se describe en la presente, en combinación con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéutica o fisiológicamente aceptables. Dichas composiciones pueden comprender tampones tales como solución salina tamponada neutra, solución salina tamponada con fosfato y similares; carbohidratos tales como glucosa, manosa, sacarosa o dextranos, manitol; proteínas; polipéptidos o aminoácidos tales como glicina; antioxidantes; agentes quelantes tales como EDTA o glutatión; adyuvantes (por ejemplo, hidróxido de aluminio); y conservantes. Las composiciones de la presente invención se formulan preferentemente para administración intravenosa.

Las composiciones farmacéuticas (soluciones, suspensiones o similares) pueden incluir uno o más de los siguientes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferentemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites fijos tales como mono- o diglicéridos sintéticos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como el cloruro de sodio o la dextrosa. La preparación parenteral se puede incluir en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples de vidrio o plástico. Una composición farmacéutica inyectable es preferentemente estéril.

Se apreciará que los eventos adversos se pueden minimizar mediante la transducción de las células inmunitarias (que contienen uno o más CAR o TCR) con un gen suicida. También se puede desear incorporar un interruptor inducible de "encendido" o "acelerador" en las células inmunitarias. Las técnicas adecuadas incluyen el uso de caspasa-9 inducible (Solicitud de EE.UU. 2011/0286980) o una timidina quinasa, antes, después o al mismo tiempo, cuando las células se transducen con el constructo CAR de la presente invención. Los métodos adicionales para introducir genes suicidas y/o interruptores "de encendido" incluyen TALENS, dedos de zinc, ARNi, ARNip, ARNhc, tecnología antisentido y otras técnicas conocidas en la materia.

Se entenderá que las descripciones en la presente son solo ejemplares y explicativas y no son restrictivas de la invención como se reivindica. En la presente solicitud, el uso del singular incluye el plural, a menos que se indique específicamente lo contrario.

Los títulos de las secciones que se usan en la presente cumplen solamente fines de organización y no debe interpretarse que limiten la materia descrita. Todos los documentos o porciones de documentos, citados en la presente solicitud, incluyendo, pero sin limitación, patentes, solicitudes de patente, artículos, libros y tratados se incorporan expresamente al presente documento por referencia en su totalidad a todos los efectos. Como se utilizan de acuerdo con la presente divulgación, ha de interpretarse que los siguientes términos, a menos que se indique lo contrario, tienen los significados expuestos a continuación:

En la presente solicitud, el uso de "o" significa "y/o", a menos que se especifique lo contrario. Además, el uso del término "incluyendo", así como otras formas, tales como "incluye" e "incluido", no es limitante. Asimismo, los términos tales como "elemento" o "componente" abarcan tanto elementos como componentes que comprenden una unidad, así como elementos y componentes que comprenden más de una subunidad, a menos que se indique específicamente lo contrario.

La expresión "actividad de STEAP1" incluye cualquier efecto biológico de STEAP1. En determinadas modalidades, la actividad de STEAP1 incluye la capacidad de STEAP1 para interactuar o unirse a un sustrato o receptor.

El término "polinucleótido", "nucleótido" o "ácido nucleico" incluye polímeros de nucleótido de cadena simple y de cadena doble. Los nucleótidos que comprenden el polinucleótido pueden ser ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. Dichas modificaciones incluyen modificaciones de la base, tales como derivados de bromouridina e inosina, modificaciones de la ribosa, tal como 2',3'-didesoxirribosa, y modificaciones del enlace internucleótido, tales como fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fósforo-diselenoato, fosforo-anilotioato, fosforaniladato y fosforoamidato.

El término "oligonucleótido" se refiere a un polinucleótido que comprende 200 o menos nucleótidos. Los oligonucleótidos pueden ser de cadena simple o de cadena doble, por ejemplo, para su uso en la construcción de un gen mutante. Los oligonucleótidos pueden ser oligonucleótidos en sentido o antisentido. Un oligonucleótido puede incluir un marcador, que incluye un marcador radioactivo, un marcador fluorescente, un hapteno o un marcador antigénico, para ensayos de detección. Los oligonucleótidos se pueden usar, por ejemplo, como cebadores de PCR, cebadores de clonación o sondas de hibridación.

La expresión "secuencia de control" hace referencia a una secuencia de polinucleótidos que puede afectar la expresión y el procesamiento de las secuencias de codificación a las que se liga. La naturaleza de dichas secuencias de control puede depender del organismo hospedador. En modalidades particulares, las secuencias de control de procariotas pueden incluir un promotor, un sitio de unión ribosómico y una secuencia de terminación de transcripción. Por ejemplo, las secuencias de control para eucariotas pueden incluir promotores que comprenden uno o múltiples sitios de reconocimiento de los factores de transcripción, secuencias potenciadoras de transcripción y secuencias de terminación de transcripción. Las "secuencias de control" pueden incluir secuencias líder (péptido señal) y/o secuencias de compañero de fusión.

Tal como se utiliza en la presente, "unido de manera operativa" hace referencia a que los componentes a los que se aplica la expresión se encuentran en una relación que permite que se lleven a cabo sus funciones inherentes en condiciones adecuadas.

El término "vector" significa cualquier molécula o entidad (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido, bacteriófago o virus) utilizado para transferir información de codificación de proteína a una célula hospedadora. La expresión "vector de expresión" o "construcción de expresión" hace referencia a un vector que es adecuado para la transformación de una célula hospedadora y contiene secuencias de ácido nucleico que dirigen y/o controlan (junto con la célula

hospedadora) la expresión de una o más regiones de codificación heterólogas a las que se unen de manera operativa. Una construcción de expresión puede incluir, pero no se limita a, secuencias que afectan a o controlan la transcripción, traducción y, si hay intrones presentes, afectan al corte y empalme de ARN de una región codificante unida operablemente a estas.

La expresión "célula hospedadora" se refiere a una célula que ha sido transformada, o es capaz de ser transformada, con una secuencia de ácido nucleico y expresa de este modo un gen de interés. La expresión incluye la progenie de la célula madre, independientemente de que la progenie sea o no idéntica en morfología o en caracteres genéticos a la célula madre original, siempre que el gen de interés esté presente.

El término "transformación" se refiere a un cambio en las características genéticas de una célula, y una célula se transformó cuando se modificó para contener un nuevo ADN o ARN. Por ejemplo, una célula se transforma cuando se modifica genéticamente de su estado natural mediante la introducción de nuevo material genético mediante transfección, transducción u otras técnicas. Después de la transfección o transducción, el ADN transformador puede recombinarse con el de la célula mediante la integración física en un cromosoma de la célula, o puede mantenerse de forma transitoria como un elemento episomal sin replicarse, o puede replicarse independientemente como un plásmido. Se considera que una célula se ha "transformado de manera estable" cuando el ADN transformante se replica con la división de la célula.

El término "transfección" se refiere a la captación de ADN extraño o exógeno por una célula. Una serie de técnicas de transfección son bien conocidas en la materia y se desvelan en la presente. Véase, *por ejemplo*, Graham *et al.*, 1973, *Virology* 52:456; Sambrook *et al.*, 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, supra; Davis *et al.*, 1986, *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier; Chu *et al.*, 1981, *Gene* 13:197.

El término "transducción" se refiere al proceso mediante el cual se introduce ADN extraño en una célula a través de un vector viral. Véase Jones *et al.*, (1998). *Genetics: principles and analysis*. Boston: Jones & Bartlett Publ.

Los términos "polipéptido" o "proteína" se refieren a una macromolécula que tiene la secuencia de aminoácidos de una proteína, que incluye delecciones, adiciones y/o sustituciones de uno o más aminoácidos de la secuencia natural. Los términos "polipéptido" y "proteína" abarcan específicamente las moléculas de unión al antígeno STEAP1, anticuerpos o secuencias que tienen eliminaciones, adiciones y/o sustituciones de uno o más aminoácidos de la proteína de unión al antígeno. La expresión "fragmento de polipéptido" hace referencia a un polipéptido que tiene una eliminación en el extremo amino, una eliminación en el extremo carboxilo, y/o una eliminación interna, en comparación con la proteína natural de longitud completa. Dichos fragmentos también pueden contener aminoácidos modificados en comparación con la proteína natural. Los fragmentos de polipéptidos útiles incluyen fragmentos inmunológicamente

funcionales de moléculas de unión a antígeno. Los fragmentos útiles incluyen, pero no se limitan a, una o más regiones CDR, dominios variables de una cadena pesada y/o ligera, una porción de otras porciones de una cadena de anticuerpo, y similares.

El término "aislado" significa (i) libre de al menos algunas otras proteínas con las cuales se encontraría normalmente, (ii) está esencialmente libre de otras proteínas de la misma fuente, *por ejemplo*, de la misma especie, (iii) separado de al menos aproximadamente el 50 por ciento de polinucleótidos, lípidos, carbohidratos u otros materiales con los cuales se asocia en la naturaleza, (iv) asociado de manera operativa (por interacción covalente o no covalente) con un polipéptido con el cual no está asociado en la naturaleza o (v) no se da en la naturaleza.

Una "variante" de un polipéptido (*por ejemplo*, una molécula de unión a antígeno o un anticuerpo) comprende una secuencia de aminoácidos en donde uno o más restos de aminoácidos se insertan, eliminan de y/o sustituyen en la secuencia de aminoácidos con respecto a otra secuencia de polipéptidos. Las variantes incluyen proteínas de fusión.

El término "identidad" se refiere a una relación entre las secuencias de dos o más moléculas polipeptídicas o dos o más moléculas de ácido nucleico, según se determine mediante la alineación y la comparación de las secuencias. "Porcentaje de identidad" significa el porcentaje de restos idénticos entre los aminoácidos o nucleótidos en las moléculas comparadas y se calcula basándose en el tamaño de la más pequeña de las moléculas que se estén comparando. Para estos cálculos, los huecos en las alineaciones (si hay alguno) se abordan preferentemente mediante un modelo matemático o programa informático particular (*es decir*, un "algoritmo").

Para calcular el porcentaje de identidad, las secuencias que se están comparando se alinean normalmente de un modo que proporcione la coincidencia más larga entre las secuencias. Un ejemplo de un programa informático que se puede usar para determinar el porcentaje de identidad es el paquete de programas GCG, que incluye GAP (Devereux *et al.*, 1984, Nucl. Acid Res. 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.). El algoritmo informático GAP se utiliza para alinear los dos polipéptidos o polinucleótidos para los cuales se desea determinar el porcentaje de identidad e secuencia. Las secuencias se alinean para la coincidencia óptima de sus respectivos aminoácidos o nucleótidos (el "intervalo de coincidencia", tal como se determina mediante el algoritmo). En determinadas modalidades, el algoritmo también usa una matriz de comparación estándar (véase, Dayhoff *et al.*, 1978, Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352 para la matriz de comparación PAM 250; Henikoff *et al.*, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919 para la matriz de comparación BLOSUM 62).

Como se usa en la presente, los veinte aminoácidos convencionales (*por ejemplo*, de origen natural) y sus abreviaturas siguen el uso convencional. Véase Immunology - A Synthesis

(2ª edición, Golub y Gren, Eds., Sinauer Assoc., Sunderland, Mass. (1991)), que se incorpora en la presente como referencia para cualquier efecto. Los estereoisómeros (por ejemplo, D-aminoácidos) de los veinte aminoácidos convencionales, aminoácidos no naturales tales como los aminoácidos alfa, alfa-disustituidos, los aminoácidos N-alquilos, el ácido láctico y otros aminoácidos no convencionales también pueden ser componentes adecuados para los polipéptidos de la presente invención. Ejemplos de aminoácidos no convencionales incluyen: 4-hidroxiprolina, .gamma.-carboxiglutamato, épsilon-N,N,N-trimetilisina, e-N-acetilisina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilina, .sigma.-N-metilarginina y otros aminoácidos e iminoácidos similares (por ejemplo, 4-hidroxiprolina). En la notación de polipéptidos utilizada en la presente, la dirección izquierda es la dirección amino terminal y la dirección derecha es la dirección carboxi terminal, de acuerdo con el uso estándar y la convención.

Las sustituciones de aminoácidos conservadoras pueden abarcar restos de aminoácidos de origen no natural, que son incorporados normalmente mediante síntesis de péptidos químicos en vez de síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos y otras formas inversas o invertidas de fracciones de aminoácidos. Los restos de origen natural se pueden dividir en clases en función de las propiedades comunes de las cadenas laterales:

- a) hidrófobos: norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- b) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- c) ácidos: Asp, Glu;
- d) básicos: His, Lys, Arg;
- e) restos que afectan la orientación de la cadena: Gly, Pro; and
- f) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

Por ejemplo, las sustituciones no conservadoras pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra clase. Dichos restos sustituidos pueden introducirse, por ejemplo, en regiones de un anticuerpo humano que son homólogas con anticuerpos no humanos, o en las regiones no homólogas de la molécula.

Al realizar cambios en la molécula de unión a antígeno, los dominios coestimuladores o activadores de la célula T modificada por ingeniería genética, de acuerdo con determinadas modalidades, puede considerarse el índice hidropático de los aminoácidos. A cada aminoácido se le ha asignado un índice hidropático en base a sus características de hidrofobicidad y carga. Estos son: isoleucina (+4.5); valina (+4.2); leucina (+3.8); fenilalanina (+2.8); cisteína/cistina (+2.5); metionina (+1.9); alanina (+1.8); glicina (-0.4); treonina (-0.7); serina (-0.8); triptófano (-0.9); tirosina (-1.3); prolina (-1.6); histidina (-3.2); glutamato (-3.5); glutamina (-3.5); aspartato (-3.5); asparagina (-3.5); lisina (-3.9); y arginina (-4.5). Véase Kyte et al., J. Mol. Biol., 157:105-131 (1982). Se sabe que determinados aminoácidos se pueden sustituir por otros aminoácidos

que tienen un índice o puntuación hidropático similar y aún conservan una actividad biológica similar. También se entiende en la técnica que la sustitución de aminoácidos similares se puede realizar de manera eficaz en base a la hidrofiliidad, particularmente cuando la proteína o péptido biológicamente funcional creado de este modo está destinada para su uso en modalidades inmunitarias, como en el presente caso. Las sustituciones de aminoácidos ejemplares se exponen en la Tabla 2.

Tabla 2

<u>Restos originales</u>	<u>Sustituciones ejemplares</u>	<u>Sustituciones preferidas</u>
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucina	Leu
Leu	Norleucina, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 Diamino-butírico	Arg
	Ácido, Gln, Asn	
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala,	Leu
	Tyr	
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe

45		
Val	Ile, Met, Leu, Phe,	Leu
	Ala, Norleucina	

El término "derivado" se refiere a una molécula que incluye una modificación química distinta de una inserción, deleción o sustitución de aminoácidos (o ácidos nucleicos). En determinadas modalidades, los derivados comprenden modificaciones covalentes, que incluyen, pero no se limitan a, enlaces químicos con polímeros, lípidos u otras fracciones orgánicas o inorgánicas. En determinadas modalidades, una molécula de unión a antígeno modificada químicamente puede tener una semivida en circulación mayor que una molécula de unión a antígeno que no está modificada químicamente. En algunas modalidades, una molécula de unión a antígeno derivado se modifica covalentemente para incluir una o más uniones de polímeros solubles en agua, que incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol, polioxietilenglicol o polipropilenglicol.

Los análogos de péptidos se usan comúnmente en la industria farmacéutica como fármacos no peptídicos con propiedades análogas a las del péptido de plantilla. Estos tipos de compuestos no peptídicos se denominan "miméticos de péptidos" o "peptidomiméticos". Fauchere, J., *Adv. Drug Res.*, 15:29 (1986); Veber & Freidinger, *TINS*, p.392 (1985); y Evans *et al.*, *J. Med. Chem.*, 30:1229 (1987), que se incorporan en la presente como referencia para cualquier efecto.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de una molécula de unión al antígeno STEAP1 determinada para producir una respuesta terapéutica en un mamífero. Dichas cantidades terapéuticamente eficaces se determinan fácilmente por un experto en la materia.

Los términos "paciente" y "sujeto" se usan de manera indistinta e incluyen sujetos animales humanos y no humanos, así como aquellos con trastornos diagnosticados formalmente, aquellos sin trastornos reconocidos formalmente, aquellos que reciben atención médica, aquellos en riesgo de desarrollar los trastornos, etc.

El término "tratar" y "tratamiento" incluye tratamientos terapéuticos, tratamientos profilácticos y aplicaciones en las que uno reduce el riesgo de que un sujeto desarrolle un trastorno u otro factor de riesgo. El tratamiento no requiere la cura completa de un trastorno y abarca modalidades en las que uno reduce los síntomas o los factores de riesgo subyacentes. El término "prevenir" no requiere la eliminación del 100 % de la posibilidad de un evento. En cambio, indica que se ha reducido la probabilidad de aparición del evento en presencia del compuesto o método.

Pueden usarse técnicas convencionales para ARN recombinante, síntesis de oligonucleótidos y cultivo y transformación de tejidos (por ejemplo, electroporación, lipofección). Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación pueden llevarse a cabo de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en la presente. Las técnicas y procedimientos anteriores pueden llevarse a cabo generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y analizan a lo largo de la presente memoria descriptiva. Véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2.^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), que se incorpora en la presente por referencia a todos los efectos.

Las siguientes secuencias ejemplificarán adicionalmente la invención.

ADN extracelular, transmembrana, intracelular de CD28T

CTTGATAATGAAAAGTC

AAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGG
TCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCT
GCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCAT
AGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCT
TACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGC (SEQ ID NO:1)

AA extracelular, transmembrana, intracelular de CD28T:

LDNEKSNGTI IHVKGKHLCP SPLFPGPSKP FWVLVVGGV LACYSLLVTV
AFIIFWVR SK RSRLHSDYM NMTPRRPGPT RKHYQPYAPP R DFAAYRS (SEQ ID NO:2)

DNA de CD28T - Extracelular

CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCT
GTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCA (SEQ ID NO:3)

AA de CD28T - Extracelular

LDNEKSNGTI IHVKGKHLCP SPLFPGPSKP (SEQ ID NO:4)

Dominio transmembrana de ADN de CD28

TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCA
CCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTT (SEQ ID NO:5)

Dominio transmembrana de AA de CD28:

FWVLVVGGV LACYSLLVTV AFIIFWV (SEQ ID NO:6)

Dominio intracelular de ADN de CD28:

AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCC
GCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCT
ATCGGAGC (SEQ ID NO:7)

Dominio intracelular de AA de CD28

RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO:8)

ADN de CD3 zeta

AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACC
AACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCA
GAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCT
5 CTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGG
AGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGA
AGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO:9)

AA de CD3 zeta

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQ
10 EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ
ID NO:10)

CD28 ADN

ATTGAGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACGGTACCA
TCATTACGTGAAAGGTAAACACCTGTGTCCTTCTCCCCTCTTCCCCGGGCCATCAAAGC
15 CC (SEQ ID NO:11)

CD28 AA

IEVMYPPPYL DNEKSNGTII HVKKGKHLCPs PLFPGPSKP (SEQ ID NO:12)

Dominio transmembrana y extracelular de ADN de CD8

GCTGCAGCATTGAGCAACTCAATAATGTATTTTAGTCACTTTGTACCAGTGTTCTTG
20 CCGGCTAAGCCTACTACCACACCCGCTCCACGGCCACCTACCCCAGCTCCTACCATCGC
TTCACAGCCTCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCTTGCCGACCGGCCGCAGGGGGCGCTGTT
CATAACAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGCCGGAACC
TGCGGCGTACTCCTGCTGTCCCTGGTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGAAC (SEQ ID
NO:13)

Dominio transmembrana y extracelular de AA de CD8

AAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH
25 TRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN (SEQ ID NO:14)

Dominio intracelular de ADN de 4-1BB

CGCTTTTCCGTCGTTAAGCGGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGC
30 CGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCT
GAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTG (SEQ ID NO:15)

Dominio intracelular de AA de 4-1BB

RFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID
NO:16)

ADN de HC del clon 2F3

CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGATGATGAAGCCTGGGGCCTCAGTG
AAGATATCCTGCAAGGCTACTGGCTACACATTACAGTACCTACTGGATAGAGTGGGTAAAG
CAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTTTACCTGGAAGTGGTAATACT
GACTTCAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTCACTGCAGATACATCCTCCGACACA
GCCTACATGCATCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTACAAGA
5 TGGGGGTACTACGGTACTAGGGGGTACTTCAATGTCTGGGGCGCAGGGTCCACGGTCAC
CGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 87)

AA de HC del clon 2F3 - CDR subrayadas

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYWIEWVRQAPGQRLEWMGEILPGSG
NTDFNEKFOGRVTFTADTSSDTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRWGYYGTRGYFNVWGQGLV
10 TVSS (SEQ ID NO: 88)

CDR1 de AA de HC del clon 2F3: TYWIE (SEQ ID NO: 89)

CDR2 de AA de HC del clon 2F3: EILPGSGNTDFNEKFQG (SEQ ID NO: 90)

CDR3 de AA de HC del clon 2F3: WGYYGTRGYFNV (SEQ ID NO: 91)

ADN de LC del clon 2F3

CAAATTGTTCTACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGG
15 TCACCATAACGTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTTCCAGCAGAAGC
CAGGCACTTCTCCCAAACCTCTGGATTTATAGCACCTCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTG
CTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCCGAATGGAGG
CTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAAAGGCGTAGTTTCCCGTACACGTTCCGAG
20 GGGGGACCAAGCTGGAAATTA (SEQ ID NO: 92)

AA de LC del clon 2F3 (CDR subrayadas)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSYMHWFQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPA
RFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQRRSFPTYFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 93)

CDR1 de AA de LC del clon 2F3: RASSSVSYMH (SEQ ID NO: 94)

CDR2 de AA de LC del clon 2F3: STSNLAS (SEQ ID NO: 95)

CDR3 de AA de LC del clon 2F3: QRRSFPTY (SEQ ID NO: 96)

ADN de HC del clon 11C2

CAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAACTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCA
AGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGATATACCTTCACAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGC
30 AGGCTCCAGGAAAGGGTTTACAGTGGATGGGCTGGATGAACACTTATACTGGAGAGCCA
ACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGAACTG
TCTCTTTGGACATCAACGACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTACAAGAGC
AGGGGGACAACTCAGGCCCGGGGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACC
GTCTCCTCA (SEQ ID NO: 97)

AA de HC del clon 11C2 (CDR subrayadas)

QLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFTNYGMNWVQQAPGQGLEWMGWMNTYTGEPT
YADKFQGRVFTLDTSA RTVYMELSSLRSEDTAVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGT
MVTVSS (SEQ ID NO:98)

CDR1 de AA de HC del clon 11C2: NYGMN (SEQ ID NO:99)

CDR2 de AA de HC del clon 11C2: WMNTYTGEPTYADKFQG (SEQ ID NO:100)

CDR3 de AA de HC del clon 11C2: AGGQLRPGAMDY (SEQ ID NO:101)

ADN de LC del clon 11C2

GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGG
CCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGATTATGATGGTGATAGTTTTATGA
ACTGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTATGTTGCATCCAATCTAGAA
TCTGGGATCCCAGACAGGTTTAGTGCCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATC
CATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTATTGTCAGCAAAGTAATGAGGAACCT
CCGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 102)

AA de LC del clon 11C2 (CDR subrayadas)

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDYDGDSFMNWYLQKPGQPPQLLIYVASNL
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQSNEEPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:
103)

CDR1 de AA de LC del clon 11C2: KASQSVDYDGDSFMN (SEQ ID NO: 104)

CDR2 de AA de LC del clon 11C2: VASNLES (SEQ ID NO: 105)

CDR3 de AA de LHC del clon 11C2: QQSNEEPPT (SEQ ID NO: 106)

ADN de HC del clon 1A1

CAGATACAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTG
AGACTCTCCTGTGTAGCGTCTGGATTACCTTCAAGAACTATGGCATGCACTGGGTCCGC
CAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATTTGGTATGATGGAAGTAATGA
ATACTATGGAGACCCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAACAT
GTTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGATGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAG
GTCGGAATAGCAGTGGCTGGGGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCCTCA (SEQ ID NO: 107)

AA de HC del clon 1A1 (CDR subrayadas)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGEINPSS
GRTNYNEKFKTRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAKLGPGPQYYAMDYWGQGT
MVTVSS (SEQ ID NO: 108)

CDR1 de AA de HC del clon 1A1: TYWMH (SEQ ID NO: 109)

CDR2 de AA de HC del clon 1A1: EINPSSGRTNYNEKFKT (SEQ ID NO: 110)

CDR3 de AA de HC del clon 1A1: LGPGPQYYAMDY (SEQ ID NO: 111)

ADN de LC del clon 1A1

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGACACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAAAG
CCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTTCTTGGCCTGGTACCAG
CAGAAACCTGGACAGGCTCCCAGTCTCCTCATCTATGTTGCATCCAGAAGGGCCGCTGG
CATCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG
ACTGGAGCCTGAAGATTTTGAATGTTTTACTGTCAACACTATGGTAGGACACCATTCCT
TTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGA (SEQ ID NO: 112)

AA de LC del clon 1A1 (CDR subrayadas)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINVLWSYQYQKPKAPKLLIYKASKLHTGV
PSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQOGQSYPTWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:113)

CDR1 de AA de LC del clon 1A1: HASQNINVLWS (SEQ ID NO: 114)

CDR2 de AA de LC del clon 1A1: KASKLHT (SEQ ID NO: 115)

CDR3 de AA de LC del clon 1A1: QOGQSYPTW (SEQ ID NO: 116)

ADN de HC del clon 7A4

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGT
GAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATACACTGGGTGCG
ACAGGCCCCTGAACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCA
CAAACCTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGGCCAGGGACACGTCCATCAGC
ACAGTTTACATGGACCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCG
AGAATACGCGGTGGTAACCTCGGTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT
CTCCTCA (SEQ ID NO: 117)

AA de HC del clon 7A4 (CDR subrayadas)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMNPNS
GNTGYAQKFOGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCGRAGYYYYFGMDVWGQGTTV
TVSS (SEQ ID NO: 118)

CDR1 de AA de HC del clon 7A4: SYDIN (SEQ ID NO: 119)

CDR2 de AA de HC del clon 7A4: WMNPNSGNTGYAQKFOG (SEQ ID NO: 120)

CDR3 de AA de HC del clon 7A4: AGYYYYFGMDV (SEQ ID NO: 121)

ADN de LC del clon 7A4

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGG
GCCACCATCAACTGCAAGTCCACCCAGAGTATTTTATACACCTCCAACAATAAGAACTTCT
TAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAACTGCTCATTTCTGGGCATCTA
TCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTTCGCT
CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAACAATATTTTA
GTACTATGTTCAAGTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGA (SEQ ID NO: 122)

AA de LC del clon 7A4 (CDR subrayadas)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRAGQSVTSSSFAWYQQKPGQAPRLLIYQTSTRATG
IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGGSRSFGQGTKVELKR (SEQ ID NO: 123)

CDR1 de AA de LC del clon 7A4: RAGQSVTSSSFA (SEQ ID NO: 124)

CDR2 de AA de LC del clon 7A4: QTSTRAT (SEQ ID NO: 125)

CDR3 de AA de LC del clon 7A4: QQYGGSR (SEQ ID NO: 126)

ADN de HC del clon 7A5

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTG
TCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTGGTGCATACTACTGGACTTGG
ATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCCATTACAGTGGGAG
CACCTACTCCAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAATTACCATATCGTTAGACACGTCTAAGAAC
CAGTTCTCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCG
AGACAAGAGGACTACGGTGGTTTGTGTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT
TTCCTCA (SEQ ID NO: 127)

AA de HC del clon 7A5 (CDR subrayadas)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMNPNS
GNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCGRAGYYYYFGMDVWGQGTTV
TVSS (SEQ ID NO: 128)

CDR1 de AA de HC del clon 7A5: SYDIN (SEQ ID NO: 129)

CDR2 de AA de HC del clon 7A5: WMNPNSGNTGYAQKFQ (SEQ ID NO: 130)

CDR3 de AA de HC del clon 7A5: AGYYYYFGMDV (SEQ ID NO: 131)

ADN de LC del clon 7A5

GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAA
TCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTACCACCGACTTAGCCTGGTACCAGCAGA
TGCCTGGACAGGCTCCCCGGCTCCTCATCTATGATGCTTCCACCAGGGCCACTGGTTTCC
CAGCCAGATTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACGCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGGCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAACATTATAAAACCTGGCCTCTCACTTTCG
GCGGAGGGACTAAGGTGGAGATCAAACGA (SEQ ID NO: 132)

AA de LC del clon 7A5 (CDR subrayadas)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRAGQSVTSSSLAWYQQKPGQAPRLLIYQTSTRATG
IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGGSRAFGQGTKVELKR (SEQ ID NO: 133)

CDR1 de AA de LC del clon 7A5: RAGQSVTSSSLA (SEQ ID NO: 134)

CDR2 de AA de LC del clon 7A5: QTSTRAT (SEQ ID NO: 135)

CDR3 de AA de LC del clon 7A5: QQYGGSR (SEQ ID NO: 136)

ADN de HC del clon 14C11

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTG
TCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTGGTGCATACTACTGGACTTGG

ATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCCATTACAGTGGGAG
CACCTACTCCAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAATTACCATATCGTTAGACACGTCTAAGAAC
CAGTTCTCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCG
AGACAAGAGGACTACGGTGGTTTGTGTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT
TTCCTCA (SEQ ID NO: 137)

5 AA de HC del clon 14C11 (CDR subrayadas)
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNS
GGTNSAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARGWLQTYFDNWGQGLTVT
VSS (SEQ ID NO: 138)

10 CDR1 de AA de HC del clon 14C11: GYMH (SEQ ID NO: 139)
 CDR2 de AA de HC del clon 14C1: WINPNSGGTNSAQKFQ (SEQ ID NO: 140)
 CDR3 de AA de HC del clon 14C1: WLQTYFDN (SEQ ID NO: 141)

ADN de LC del clon 14C11
 GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAA
TCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTACCACCGACTTAGCCTGGTACCAGCAGA
15 TGCCTGGACAGGCTCCCCGGCTCCTCATCTATGATGCTTCCACCAGGGCCACTGGTTTCC
CAGCCAGATTGAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACGCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGGCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAACATTATAAAACCTGGCCTCTCACTTTTCG
CGCGAGGGGACTAAGGTGGAGATCAAACGA (SEQ ID NO: 142)

20 AA de LC del clon 14C11 (CDR subrayadas)
 DIVMTQSPDSLAVSLGERATYICKSSQTVLTSSNNKNFLAWYQQKLGQPPKLLISWAS
TRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAIYYCQHYYTSPLTFGGGTKVEIKR (SEQ ID
NO: 143)

 CDR1 de AA de LC del clon 14C11: TVLTSSNNKNFLA (SEQ ID NO: 144)
 CDR2 de AA de LC del clon 14C1: WASTRES (SEQ ID NO: 145)
25 CDR3 de AA de LC del clon 14C1: QHYYTSPLT (SEQ ID NO: 146)

ADN del constructo S1-2F3-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita)
 ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
CGTGAAGGTGAGCTGCAAAGCCAGCGGCTACACCTTCTCCACCTACTGGATCGAGTGGG
30 TGAGACAGGCCCGGACAGAGGCTGGAATGGATGGGAGAGATCCTGCCCGGACGCGG
AACACCGACTTCAACGAGAAGTTCCAGGGCAGAGTGACCTTCACCGCCGATAACCAGCAG
CGACACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGAAGCGAGGATACCGCCGTCTACTACT
GCACCAGATGGGGCTACTACGGCACCAGGGGCTATTTCAACGTGTGGGGCCAGGGAACC
CTCGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAG
35 GCTCCGAGATTGTGCTGACCCAGAGCCCTGCTACACTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGAGA

GCCCACTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGTGAGCTACATGCACTGGTTCCAGCAAAA
GCCCCGCCAGGCCCTAGGCTGCTGATCTACAGCACATCCAACCTGGCCAGCGGCATCC
CTGCCAGATTCAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACCATCTCCAGCCTG
GAGCCCGAGGACTTTGCCGTGTATTACTGCCAGCAGAGGAGGAGCTTCCCCTACACATTC
GGCCAGGGCACCAAACTGGAGATCAAGGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAACGG
5 AACAATCATTACAGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATC
CAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGT
CACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGAT
TACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCA
CCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGCTTTTCCGTCGTTAAGCGGGGGAGAAAA
10 AAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGCTCCAAACGACTCAGGAAGAG
GACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTGA
AGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACG
AGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGAC
CCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCT
15 GCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAA
GGGGAAAAGGGCACGACGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTAT
GACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGG
GCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCC
GGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGT
20 GTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAAT
GTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACA
GTCTGTGAACCATGCCTGGATTCACTGACATTACAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCT
TGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTCTGAAGCC
GATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGT
25 GAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCACTTGCCAGGATAAGCA
AAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTCG
ACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACG
CGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACAC
CTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAG
30 CAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAA
CCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCA
GCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
NO:17)

AA del constructo S1-2F3-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYWIEW

VRQAPGQRLEWMGEILPGSGNTDFNEKFQGRVTFTADTSSDTAYMELSSLRSEDNAVYYCT
RWGYYGTRGYFNVWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATL
SCRASSSVSYMHWFQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAV
YYCQQRRSFPYTFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVG
5 GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRFS
VVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ
NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK
GERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGDVEENPGP
MGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQ
10 TVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRC
EACRVCEAGSLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTR
WADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTVMGSSQPVVT
RGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:18)

ADN del constructo S1-2F3-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita)

15 ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
CGTGAAGGTGAGCTGCAAAGCCAGCGGCTACACCTTCTCCACCTACTGGATCGAGTGGG
TGAGACAGGCCCCCGACAGAGGCTGGAATGGATGGGAGAGATCCTGCCCGGCAGCGG
CAACACCGACTTCAACGAGAAGTTCCAGGGCAGAGTGACCTTCACCGCCGATACCAGCA
20 GCGACACCGCCTACATGGAAGTGCAGCAGCCTGAGAAGCGAGGATACCGCCGTCTACTAC
TGCACCAGATGGGGCTACTACGGCACCAGGGGCTATTTCAACGTGTGGGGCCAGGGAAC
CCTCGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGA
GGCTCCGAGATTGTGCTGACCCAGAGCCCTGCTACACTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGAG
AGCCACACTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGTGAGCTACATGCACTGGTTCCAGCAAA
25 AGCCCGGCCAGGCCCTAGGCTGCTGATCTACAGCACATCCAACCTGGCCAGCGGCATC
CCTGCCAGATTCAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCAGTACACCCTGACCATCTCCAGCCT
GGAGCCCGAGGACTTTGCCGTGTATTACTGCCAGCAGAGGAGGAGCTTCCCCTACACAT
TCGGCCAGGGCACCAAAGTGGAGATCAAGGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAAC
GGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCA
30 TCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTC
GTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGC
GATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTAC
GCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGAT
GCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAG
35 GGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAAC

CAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTG
AAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGT
TTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCC
CTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACAT
GTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTAT
5 GGATGGCCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGG
AGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTG
GCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGAT
TCAGTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAAGCCTTGTACCGAATGT
GTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCGAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATG
10 TGCCTATGGATATTACCAGGACGAAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTG
AAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCAAGTTGCCAGGATAAGCAAACACAGTATGTGAGGAGT
GTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTGCGACCCTTGCTTGCCGTGCACC
GTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGT
GCGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGT
15 ACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTAC
AGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAAGTCGTGACGCGGGGCA
CAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTTCGTGGGCCTGG
TAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:19)

AA del constructo S1-2F3-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR
20 subrayadas)

MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYWIEW
VRQAPGQRLEWMGEILPGSGNTDFNEKFQGRVFTADTSSDTAYMELSSLRSEDVAVYYCT
RWGYYGTRGYFNVWGQGLTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATL
SCRASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSDTYTLTISSLEPEDFAV
25 YYCQQRRSFPYTFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVG
GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRV
KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGR
GSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCKA
30 CNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVC
RCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPC
TVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAG
VTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:20)

ADN del constructo S1-2F3-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCCCGGAGCCAG
CGTGAAGGTGAGCTGCAAAGCCAGCGGCTACACCTTCTCCACCTACTGGATCGAGTGGG
TGAGACAGGCCCCCGGACAGAGGCTGGAATGGATGGGAGAGATCCTGCCCGGCAGCGG
CAACACCGACTTCAACGAGAAGTTCCAGGGCAGAGTGACCTTCACCGCCGATAACCAGCA
5 GCGACACCGCCTACATGGAAGTGCAGCAGCCTGAGAAGCGAGGATACCGCCGTCTACTAC
TGCACCAGATGGGGCTACTACGGCACCAGGGGCTATTTCAACGTGTGGGGCCAGGGAAC
CCTCGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGA
GGCTCCGAGATTGTGCTGACCCAGAGCCCTGCTACACTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGAG
AGCCACACTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGTGAGCTACATGCACTGGTTCCAGCAAA
10 AGCCCCGGCCAGGCCCTAGGCTGCTGATCTACAGCACATCCAACCTGGCCAGCGGCATC
CCTGCCAGATTCAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACCATCTCCAGCCT
GGAGCCCCGAGGACTTTGCCGTGTATTACTGCCAGCAGAGGAGGAGCTTCCCCTACACAT
TCGGCCAGGGCACCAAAGTGGAGATCAAGGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAAC
GGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCA
15 TCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTC
GTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTTCGCTTTTCCGTCGTTAAGCGGGGGAGAAAA
AAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGAG
GACGGCTGCTCCTGCCGCTTTTCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTGA
AGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACG
20 AGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGAC
CCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCT
GCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAA
GGGGAAAAGGGCACGACGTTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTAT
GACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGG
25 GCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCC
GGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGT
GTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTACTCCGGTGAAT
GTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTTGGTGCTAACCAGACA
GTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAGTGACATTCAAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCT
30 TGCAAGCCTTGTAACGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCC
GATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGT
GAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCAAGTGGCAGGATAAGCA
AAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTGCG
ACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACG
35 CGCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACAC

CTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAG
CAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAA
CCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCA
GCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
NO:21)

5 AA del constructo S1-2F3-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYWIEW
VRQAPGQRLEWMGEILPGSGNTDFNEKFQGRVTFTADTSSDTAYMELSSLRSEDVAVYYCT
RWGYYGTRGYFNVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATL
10 SCRASSSVSYMHWFQKPKGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSDYTLTISSLEPEDFAV
YYCQQRSSFYTFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVG
GVLACYSLLVTVAFIIFWVRFVSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGG
CELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG
LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDLGYQLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGS
15 GEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGE
CCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEAD
DAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVP
CLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIAS
TVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:22)

20 ADN del constructo S1-2F3-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
CGTGAAGGTGAGCTGCAAAGCCAGCGGCTACACCTTCTCCACCTACTGGATCGAGTGGG
TGAGACAGGCCCCCGGACAGAGGCTGGAATGGATGGGAGAGATCCTGCCCGGCAGCGG
25 CAACACCGACTTCAACGAGAAGTTCCAGGGCAGAGTGACCTTCACCGCCGATACCAGCA
GCGACACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGAAGCGAGGATACCGCCGTCTACTAC
TGCACCAGATGGGGCTACTACGGCACCAGGGGCTATTTCAACGTGTGGGGCCAGGGAAC
CCTCGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGA
GGCTCCGAGATTGTGCTGACCCAGAGCCCTGCTACACTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGAG
30 AGCCACACTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGTGAGCTACATGCACTGGTTCCAGCAAA
AGCCCCGGCCAGGCCCTAGGCTGCTGATCTACAGCACATCCAACCTGGCCAGCGGCATC
CCTGCCAGATTCAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCAGTACACCCTGACCATCTCCAGCCT
GGAGCCCCGAGGACTTTGCCGTGTATTACTGCCAGCAGAGGAGGAGCTTCCCCTACACAT
TCGGCCAGGGCACCAAAGTGGAGATCAAGGCCGCTGCCTTCGTGCCTGTTTTTCTGCCC
35 GCGAAACCCACAAGTACCCCCGCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAACTATCGCTTC

CCAACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCGGCGCCGTGCAC
ACTAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGGACATGC
GGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACAGATCCAAA
AGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACA
AGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCAGGGTG
5 AAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAAC
GAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGA
CCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGC
TGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAA
GGGGAAAAGGGCACGACGTTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTAT
10 GACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGG
GCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCC
GGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGT
GTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTACTCCGGTGAAT
GTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACA
15 GTCTGTGAACCATGCCTGGATTCA GTGACATTCA GCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCT
TGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCC
GATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGT
GAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCA GTTGCCAGGATAAGCA
AAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTCTG
20 ACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACG
CGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACAC
CTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAG
CAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAA
CCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTAGCATCTTGGA
25 GCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
NO:23)

AA del constructo S1-2F3-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYWIEW
VRQAPGQRLEWMGEILPGSGNTDFNEKFQGRVTFTADTSSDTAYMELSSLRSED TAVYYCT
30 RWGYYGTRGYFNVWGQGLTVVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATL
SCRASSSVSYMHW FQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAV
YYCQQRRSFPYTFGQGTKLEIKAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP
AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKR SRLLHSDYMNMTPRR
PGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR
35 GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKD

TYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGV
SLGGAKEACPTGLYTHSGECCACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCK
PCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNT
VCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGS
DSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAY
5 IAFKR (SEQ ID NO:24)

ADN del constructo S1-2F3-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGACGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
CGTGAAGGTGAGCTGCAAAGCCAGCGGCTACACCTTCTCCACCTACTGGATCGAGTGGG
10 TGAGACAGGCCCCCGACAGAGGCTGGAATGGATGGGAGAGATCCTGCCCGGCAGCGG
CAACACCGACTTCAACGAGAAGTTCCAGGGCAGAGTGACCTTCACCGCCGATACCAGCA
GCGACACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGAAGCGAGGATACCGCCGTCTACTAC
TGCACCAGATGGGGCTACTACGGCACCAGGGGCTATTTCAACGTGTGGGGCCAGGGAAC
CCTCGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGA
15 GGCTCCGAGATTGTGCTGACCCAGAGCCCTGCTACACTGAGCCTGAGCCCCGGCGAGAG
AGCCACACTGAGCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGTGAGCTACATGCACTGGTTCCAGCAAA
AGCCCCGGCCAGGCCCCCTAGGCTGCTGATCTACAGCACATCCAACCTGGCCAGCGGCATC
CCTGCCAGATTCAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCAGCTACACCCTGACCATCTCCAGCCT
GGAGCCCCGAGGACTTTGCCGTGTATTACTGCCAGCAGAGGAGGAGCTTCCCCTACACAT
20 TCGGCCAGGGCACCAAAGTGGAGATCAAGGCCGCTGCCTTCGTGCCTGTTTTTCTGCCC
GCGAAACCCACAAGTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAACTATCGCTTC
CCAACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCGCGGCAGGCGGCGCCGTGCAC
ACTAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGGACATGC
GGGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACCGCTTTTCC
25 GTCGTTAAGCGGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCG
GTCCAAACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGG
GCGGGTGCGAACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAG
GGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTT
GGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCC
30 CAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATA
GGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCA
GCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCA
AGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGA
AAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTG
35 CTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGG

CCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACA
ACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTGAGTACATTGAGCGA
TGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCAT
GTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCA
GGACGAAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTC
5 GTGTTGAGTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTAC
AGCGACGAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGA
ACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGG
AGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCA
AGAACCGGAGGCCCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGA
10 CGACAGTCATGGGATCCTCACAAACAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATT
CCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTT
AAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:25)

AA del constructo S1-2F3-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYWIEW

15 VRQAPGQRLEWMGEILPGSGNTDFNEKFQGRVTFTADTSSDTAYMELSSLRSEDNAVYYCT
RWGYYGTRGYFNVWVGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATL
SCRASSSVSYMHWFFQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAV
YYCQQRRSFPYTFGQGTKLEIKAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP
AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRFVSVKVRGRKKLLYIFKQPF
20 MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYD
VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL
STATKDTYDALHMQUALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLL
LLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSA
TEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGSLVFSQC
25 DKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAEECEIPGRWITRST
PPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVV
GLVAYIAFKR (SEQ ID NO:26)

ADN del constructo S1-11C2-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita)

30 ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACG
CCCGGAGATTGAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAAAAGCCCGGAGCCACCGTG
AAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACATTCACCAACTACGGCATGAACTGGGTGCA
ACAGGCCCCCGGCCAGGGACTGGAGTGGATGGGCTGGATGAACACATACACCGGCGAG
CCCACCTACGCCGACAAGTTCCAGGGCAGGGTGACATTCACACTCGATACCAGCGCCAG
35 AACCGTGTATATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCTGTGTACTTCTGCG

5

10

15

20

25

30

35

CAAGGGCTGGAGGCCAGCTGAGACCTGGCGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAT
GGTGACCGTGAGCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAGG
CTCCGACATCGTGCTGACCCAGACACCTCTCTCCCTGTCCGTGACCCCCGGACAGCCTG
CCTCCATTTCTGTAAAGGCCTCCCAGAGCGTGGACTATGACGGCGACAGCTTCATGAACT
GGTACCTGCAGAAGCCCGGACAACCCCCCAGCTGCTGATCTACGTGGCCAGCAACCTG
GAGTCCGGCGTGCTGACAGGTTTTCCGGCTCCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAA
GATCAGCAGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAG
GAGCCCCCTACCTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGCCGCTGCCCTTGATAA
TGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTT
GTTCCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTG
TTACTCTCTGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGC
CTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACAC
TACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGCTTTTCCGTCGTT
AAGCGGGGGAGAAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAA
ACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGT
GCGAACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAG
AACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAG
CGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGG
GTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGA
AAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGC
TACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAG
TGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCG
GGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCC
TGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTAC
ACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGT
GGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAGTGACATTCAGCGATGTTGTC
TCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCC
CCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAA
ACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCA
GTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGAC
GAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCA
GCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGG
ATACCCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACC
GGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAG
TCATGGGATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCCTGTCT

ACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGAT
GACCTAGGTAA (SEQ ID NO:27)

AA del constructo S1-11C2-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

5 **MALPVTALLPLALLHAARPEI**QLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFTNYGMNW
VQQAPGQGLEWMGWMNTYTGEPTYADKFQGRVFTLDTSA RTVYMELSSLRSEDTAVYFC
ARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQTPLSLVTPGQPA
SISCKASQSVDYDGDSFMNWYLQKPGQPPQLLIYVASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDVGVYYCQQSNEEPPTFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP
FWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRD
10 FAAYRSRFSVVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSAD
APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
AYSEIGMKGERRRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGD
VEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVA
QPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQ
15 DETTGRCEACRVCEAGSLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQ
LRECTRWADAEEIPIGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPEQDLIASTVAGVVTTVMGSS
QPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:28)

ADN del constructo S1-11C2-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita)

20 ATGGCACTCCCCGTA ACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACG
CCCGGAGATTCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAAAAGCCCGGAGCCACCGTG
AAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACATTCACCAACTACGGCATGAACTGGGTGCA
ACAGGCCCCCGGCCAGGGACTGGAGTGGATGGGCTGGATGAACACATACACCGGCGAG
CCCACCTACGCCGACAAGTTCCAGGGCAGGGTGACATTCACACTCGATACCAGCGCCAG
25 AACCGTGTATATGGA ACTGAGCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCTGTGTACTTCTGCG
CAAGGGCTGGAGGCCAGCTGAGACCTGGCGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAT
GGTGACCGTGAGCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAGG
CTCCGACATCGTGCTGACCCAGACACCTCTCTCCCTGTCCGTGACCCCCGGACAGCCTG
CCTCCATTTCTGTAAAGGCCTCCAGAGCGTG GACTATGACGGCGACAGCTTCATGAACT
30 GGTACCTGCAGAAGCCCGGACAACCCCCCAGCTGCTGATCTACGTGGCCAGCAACCTG
GAGTCCGGCGTGCTGACAGGTTTTCCGGCTCCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAA
GATCAGCAGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAG
GAGCCCCCTACCTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGCCGCTGCCCTTGATAA
TGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTACCCCTT
35 GTTCCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTG

TTACTCTCTGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGC
CTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACAC
TACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCC
AGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAAC
CTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTTGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGAT
5 GGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGG
ATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAA
GGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTC
CACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGAT
CTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACG
10 GGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGG
AGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAG
CCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAA
CCATGCCTGGATTCAGTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCT
TGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCA
15 GTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTG
CCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTTCAGTTGCCAGGATAAGCAAAACACAG
TATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTCGACCCTTGC
TTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGC
AGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAG
20 GGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCT
GATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAGTCGT
GACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGT
CGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:29)

25 AA del constructo S1-11C2-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPEIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFTNYGMNW
VQQAPGQGLEWMGWMNTYTGEPTYADKFQGRVTFTLDTSAITVYMELSSLRSEDTAVYFC
ARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQTPLSLSVTPGQPA
SISCKASQSVDDYDGDSFMNWYLQKPGQPPQLLIYVASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
30 VEAEDVGVYYCQQSNEEPPTFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP
FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD
FAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPENGGKPRRKNP
QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKR
SGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTH
35 SGECCACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCV

EADDAVCRCA YGYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANH
VDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQD
LIASTVAGVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:30)

ADN del constructo S1-11C2-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
5 CACGCCCCGGAGATTCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAAAAGCCCGGAGCCAC
CGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACATTCACCAACTACGGCATGAACTGGG
TGCAACAGGCCCCCGGCCAGGGACTGGAGTGGATGGGCTGGATGAACACATACACCGG
CGAGCCACCTACGCCGACAAGTTCCAGGGCAGGGTGACATTCACACTCGATACCAGCG
CCAGAACCGTGTATATGGAAGTCTGAGCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCTGTGTACTTC
10 TGCGCAAGGGCTGGAGGCCAGCTGAGACCTGGCGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCA
CCATGGTGACCGTGAGCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGG
AGGCTCCGACATCGTGCTGACCCAGACACCTCTCTCCCTGTCCGTGACCCCCGGACAGC
CTGCCTCCATTTCTGTAAAGGCCTCCAGAGCGTGGACTATGACGGCGACAGCTTCATGA
ACTGGTACCTGCAGAAGCCCGGACAACCCCCCAGCTGCTGATCTACGTGGCCAGCAAC
15 CTGGAGTCCGGCGTGCTGACAGGTTTTCCGGCTCCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT
GAAGATCAGCAGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAAC
GAGGAGCCCCCTACCTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGCCGCTGCCCTTGA
TAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACAGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACC
CTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGC
20 TTGTTACTCTCTGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTTCGTTTTCCGTCGTTA
AGCGGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAA
CGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTG
CGAACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGA
ACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGC
25 GCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGG
TCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAA
GGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTA
CGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGT
GGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGG
30 GGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCT
GCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACA
CTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTG
GTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAAGTACATTACGCGATGTTGTCT
CAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCC
35 CCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAA

ACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCA
GTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGAC
GAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCA
GCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGG
ATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACC
5 GGAGGCCCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAG
TCATGGGATCCTCACAACCAAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCT
ACTGTAGCATCTTGCGAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGAT
GACCTAGGTAA (SEQ ID NO:31)

AA del constructo S1-11C2-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
10 subrayadas)

MALPVTALLLPLALLHAARPEIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFTNYGMNW
VQQAPGQGLEWMGWMNTYTGEPTYADKFQGRVFTLDTSAITVYMESSLRSEDTAVYFC
ARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQTPLSLSVTPGQPA
SISCKASQSVDDYDGSFMNWYLQKPGQPPQLLIYVASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
15 VEAEDVGVYYCQQSNEEPPTFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP
FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRFVSVKRGKRLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSKR
FPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKP
RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP
PRAKRSGSGEGRGSLTCTGDEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPT
20 GLYTHSGECKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSM
SAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYS
DEANHVDPLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEA
PPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID
NO:32)

25 ADN del constructo S1-11C2-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACG
CCCGGAGATTGAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAAAGCCCGGAGCCACCGTG
AAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACATTCACCAACTACGGCATGAACTGGGTGCA
30 ACAGGCCCCCGGCCAGGGACTGGAGTGGATGGGCTGGATGAACACATACACCGGCGAG
CCCACCTACGCCGACAAGTTCCAGGGCAGGGTGACATTCACACTCGATACCAGCGCCAG
AACCGTGTATATGGAAGTCTGAGCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCTGTGTACTTCTGCG
CAAGGGCTGGAGGCCAGCTGAGACCTGGCGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAT
GGTGACCGTGAGCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAGG
35 CTCCGACATCGTGCTGACCCAGACACCTCTCTCCCTGTCCGTGACCCCCGGACAGCCTG

5 CCTCCATTTCTGTAAGGCCTCCCAGAGCGTGGACTATGACGGCGACAGCTTCATGAACT
GGTACCTGCAGAAGCCCGGACAACCCCCCAGCTGCTGATCTACGTGGCCAGCAACCTG
GAGTCCGGCGTGCCTGACAGGTTTTCCGGCTCCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAA
GATCAGCAGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAG
GAGCCCCCTACCTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGCCGCTGCCTTCGTGCC
10 TGTTCCTGCCCCGCGAAACCCACAACCTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACC
AACTATCGCTTCCCAACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCG
GCGCCGTGCACACTAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTG
CCGGGACATGCGGGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAA
ACAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCC
15 CTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATC
GGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAAC
CAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCG
CAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGAGGGT
CTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAA
20 GGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTA
CGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGT
GGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGG
GGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCT
GCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACA
25 CTCCTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTG
GTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCACTGACATTCAGCGATGTTGTCT
CAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCC
CCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAA
ACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCA
30 GTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGAC
GAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCA
GCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGATGG
ATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACC
GGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAG
TCATGGGATCCTCACAACAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCT
ACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGAT
GACCTAGGTAA (SEQ ID NO:33)

AA del constructo S1-11C2-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAAARPEIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFTNYGMNW
VQQAPGQGLEWMGWMNTYTGEPTYADKFQGRVFTLDTSARTVYMELSSLRSEDTAVYFC
ARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQTPLSLVTPGQPA
SISCKASQSVDYDGDSEFMNWYLQKPGQPPQLLIYVASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDVGVYYCQQSNEEPPTFGQGTKLEIKAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS
5 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLHSDY
MNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE
YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSRSGSEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPR
LLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDV
10 VSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFS
CQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITR
STPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAV
VVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:34)

ADN del constructo S1-11C2-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita)

15 ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGATTCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAAAAGCCCCGAGCCAC
CGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACATTCACCAACTACGGCATGAACTGGG
TGCAACAGGCCCCCGGCCAGGGACTGGAGTGGATGGGCTGGATGAACACATACACCGG
CGAGCCCACCTACGCCGACAAGTTCCAGGGCAGGGTGACATTCACACTCGATACCAGCG
20 CCAGAACCGTGTATATGGAAGTGCAGCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCTGTGTACTTC
TGCGCAAGGGCTGGAGGCCAGCTGAGACCTGGCGCTATGGACTACTGGGGCCAGGGCA
CCATGGTGACCGTGAGCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGG
AGGCTCCGACATCGTGCTGACCCAGACACCTCTCTCCCTGTCCGTGACCCCCGGACAGC
CTGCCTCCATTTCTGTAAAGGCCTCCAGAGCGTGACTATGACGGCGACAGCTTCATGA
25 ACTGGTACCTGCAGAAGCCCCGACAACCCCCCAGCTGCTGATCTACGTGGCCAGCAAC
CTGGAGTCCGGCGTGCCTGACAGGTTTTCCGGCTCCGGCAGCGGCACCGACTTCACCT
GAAGATCAGCAGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAAC
GAGGAGCCCCCTACCTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGCCGCTGCCTTCGT
GCCTGTTTTTCTGCCCCGGAACCCACAACCTACCCCCGCCCTCGGCCCCCAACTCCTG
30 CACCAACTATCGCTTCCCAACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCA
GGCGGCGCCGTGCACACTAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCC
CCTTGCCGGGACATGCGGGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCA
CAGAAACCGCTTTTCCGTCTTAAGCGGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACA
GCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTC
35 CTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCA

CCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGA
AGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAA
GACGAAAAAACCCCAAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAA
GCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTT
GTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCT
5 GCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGT
GGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGG
ATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAG
GCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGC
GAGGGCGTGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCA
10 GTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTG
GGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGC
CTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAG
CCGGCTCTGGCCTCGTGTTCAAGTTCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTG
CAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTGACCCCTTGCTTGCCGTGCACCGTC
15 TGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCG
AGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACA
GCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGT
TGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAA
CCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAG
20 CCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:35)

AA del constructo S1-11C2-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

MALPVTALLLPLALLHAARPEIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFTNYGMNW
VQQAPGQGLEWMGWMNTYTGEPTYADKFQGRVFTLDTSAARTVYMESSLRSEDTAVYFC
25 ARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQTPLSLSVTPGQPA
SISCKASQSDYDGDSEFMNWYLQKPGQPPQLLIYVASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDVGVYYCQQSNEEPPTFGQGTKLEIKAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRFVVKRGRKK
LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL
30 GRREEYDVLDRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH
DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRA
MDGPRLLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSV
TFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGS
GLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPG

RWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYC
SILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:36)

ADN del constructo S2-1A1-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
5 CGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTACCACCTACTGGATGCACTGGG
TCAGACAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAAATCAACCCCTCCTCCGGC
AGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGACCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCAGCAC
CAGCACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GTGCCAAGCTGGGACCCGGCCCCCAGTACTATGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACC
10 ATGGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAG
GCTCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCAGCCTGTCCGCTAGCGTGGGCGACAGG
GTCACCATTACCTGCCACGCCAGCCAGAACATCAACGTGTGGCTGAGCTGGTATCAGCA
GAAACCCGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCAAGCTGCACACCGGCG
TGCCCAGCAGGTTTAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTCACCATCAGCAGC
15 CTGCAGCCCCGAAGACTTCGCTACCTACTACTGCCAGCAGGGACAAAGCTACCCCTGGAC
CTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAGGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAA
CGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCC
ATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCT
CGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAG
20 CGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTA
CGCACCACTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGCTTTTCCGTCGTAAAGCGGGGGA
GAAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGG
AAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAG
GGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTA
25 TAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGAC
GGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAAT
GAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCG
GAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATA
CTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGG
30 GAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGG
TGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGG
GCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTACTCCGGT
GAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCA
GACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAGTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGA
35 GCCTTGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTCTGA

AGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGC
GGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCAAGTTGCCAGGAT
AAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCA
CGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGT
GTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAG
5 CACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTC
CAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCC
TCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATC
TTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA
(SEQ ID NO:37)

10 AA del constructo S2-1A1-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTTYWMH
WVRQAPGQGLEWMGEINPSSGRTNYNEKFKTRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYC
AKLGPGPQYYAMDYWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDVRV
15 TITCHASQNINWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASKLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDF
ATYYCQQGQSYPTWTFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWLVV
VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
RFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQ
GQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIG
20 MKGERRRRGKGHDLGYQLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSRSGEGRGSLLTCGDVEENP
GPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGA
NQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTG
RCEACRVCEAGSLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPLPCTVCEDETERQLRECT
RWADAEECEIPGRWITRSTPPEGSdstapstQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTVMGSSQPVV
25 TRGTTDNLIPVYCSILAAVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:38)

ADN del constructo S2-1A1-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
CGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTACCACCTACTGGATGCACTGGG
30 TCAGACAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAAATCAACCCCTCCTCCGGC
AGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGACCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCAGCAC
CAGCACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GTGCCAAGCTGGGACCCGGCCCCCAGTACTATGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACC
ATGGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAG
35 GCTCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCAGCCTGTCCGCTAGCGTGGGCGACAGG

5 GTCACCATTACCTGCCACGCCAGCCAGAACATCAACGTGTGGCTGAGCTGGTATCAGCA
GAAACCCGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCAAGCTGCACACCGGCG
TGCCCAGCAGGTTTAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCCCGAAGACTTCGCTACCTACTACTGCCAGCAGGGACAAAGCTACCCCTGGAC
CTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAGGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAA
CGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCC
ATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCT
CGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAG
CGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTA
CGCACCACTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGA
10 TGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCA
GGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAA
CCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCT
GAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGG
TTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGC
15 CCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACA
TGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTA
TGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAG
GAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTT
GGCGAGGGCGTTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGA
20 TTCAGTGACATTACGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACGAATG
TGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTCTGAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGAT
GTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGT
GAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTTCAAGTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGA
GTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTTCGACCCTTGCTTGCCGTGCA
25 CCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGA
GTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACA
GTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCT
ACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGG
CACAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCT
30 GGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:39)

AA del constructo S2-1A1-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

35 **MALPVTALLLPLALLHAARP**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTYWMH
WVRQAPGQGLEWMGEINPSSGRITNYNEKFKTRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC
AKLGPGPQYYAMDYWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV

TITCHASQNINVWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASKLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDF
ATYYCQQGQSYPWTFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWWLVV
VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEG
5 RGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCK
ACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAV
CRCAYGYQQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLP
CTVCEDTERQLRECTRWADAEEIIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVA
GVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:40)

ADN del constructo S2-1A1-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita)

10 ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
CGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGG
TCAGACAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAAATCAACCCCTCCTCCGGC
15 AGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGACCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCAGCAC
CAGCACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GTGCCAAGCTGGGACCCGGCCCCCAGTACTATGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACC
ATGGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAG
GCTCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCAGCCTGTCCGCTAGCGTGGGCGACAGG
20 GTCACCATTACCTGCCACGCCAGCCAGAACATCAACGTGTGGCTGAGCTGGTATCAGCA
GAAACCCGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCAAGCTGCACACCGGCG
TGCCCAGCAGGTTTAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCCGAAGACTTCGCTACCTACTACTGCCAGCAGGGACAAAGCTACCCCTGGAC
CTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAGGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAA
25 CGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCC
ATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCT
CGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTCGCTTTTCCGTCGTTAAGCGGGGGAGAAA
AAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGA
GGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTG
30 AAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAAC
GAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGA
CCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGGAGGTCTCTATAATGAGC
TGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAA
GGGGAAAAGGGCACGACGTTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTAT
35 GACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGG

GCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCC
GGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGT
GTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAAT
GTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACA
GTCTGTGAACCATGCCTGGATTGAGTGCATTGAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCT
5 TGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCC
GATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGT
GAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTGAGTTGCCAGGATAAGCA
AAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTGCG
ACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACG
10 CGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACAC
CTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCCCTCCAGAG
CAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAA
CCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCA
GCCGTGGTTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
15 NO:41)

AA del constructo S2-1A1-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMH
WVRQAPGQGLEWMGEINPSSGRTNYNEKFKTRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYC
20 AKLGPGPQYYAMDYWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
TITCHASQNINVWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASKLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQGQSYPTWFGQGTKLEIKAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLV
VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRFVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEE
GGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQ
25 EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRS
GSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHS
GECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVE
ADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHV
DPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAEEIEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLI
30 ASTVAGVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:42)

ADN del constructo S2-1A1-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAACCTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
CGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCACCTACTGGATGCACTGGG
35 TCAGACAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAAATCAACCCCTCCTCCGGC

AGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGACCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCAGCAC
CAGCACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GTGCCAAGCTGGGACCCGGCCCCCAGTACTATGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACC
ATGGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAG
GCTCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTCCAGCCTGTCCGCTAGCGTGGGCGACAGG
5 GTCACCATTACCTGCCACGCCAGCCAGAACATCAACGTGTGGCTGAGCTGGTATCAGCA
GAAACCCGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCAAGCTGCACACCGGCG
TGCCCAGCAGGTTTAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTCACCATCAGCAGC
CTGCAGCCCCGAAGACTTCGCTACCTACTACTGCCAGCAGGGACAAAGCTACCCCTGGAC
CTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAGGCCGCTGCCTTCGTGCCTGTTTTTCTGCC
10 CGCGAAACCCACAACCTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAACTATCGCTT
CCCAACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCGGCGCCGTGCA
CACTAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGGACATG
CGGGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACAGATCCAA
AAGAAGCCGCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCAC
15 AAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCAGGGT
GAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGGCCAGAACCAACTGTATAA
CGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGG
GACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGA
GCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGA
20 GAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACT
TATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGA
GGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTG
CCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGC
GTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGA
25 ATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGAC
AGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAGTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCC
TTGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTCTGAAGC
CGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGT
GTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTTCAAGTTGCCAGGATAAG
30 CAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGT
CGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATAACGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTA
CGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATACCCGGAGCAC
ACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAG
AGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCA
35 CAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTG

GCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA
(SEQ ID NO:43)

AA del constructo S2-1A1-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMH
WVRQAPGQGLEWMGEINPSSGRTNYNEKFKTRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYC
5 AKLGPGPQYYAMDYWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
TITCHASQNINVWLSWYQKPKGAPKLLIYKASKLHTGVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDF
ATYYCQQGQSYPWTFGQGTKLEIKAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLHSDYMNMT
PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLN
10 KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQGLSTA
TKDITYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLL
LGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATE
PCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDK
QNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDETERQLRECTRWADAEEIIPGRWITRSTPPE
15 GSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLV
AYIAFKR (SEQ ID NO:44)

ADN del constructo S2-1A1-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCCAG
20 CGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCTTACCACCTACTGGATGCACTGGG
TCAGACAGGCTCCCGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCGAAATCAACCCCTCCTCCGGC
AGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGACCAGGGTGACCATGACCAGGGACACCAGCAC
CAGCACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACT
GTGCCAAGCTGGGACCCGGCCCCCAGTACTATGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGCACC
25 ATGGTGACCGTGAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGTGGCGGTGGTTCTGGCGGCGGAG
GCTCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCAGCCTGTCCGCTAGCGTGGGCGACAGG
GTCACCATTACCTGCCACGCCAGCCAGAACATCAACGTGTGGCTGAGCTGGTATCAGCA
GAAACCCGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCAAGCTGCACACCGGCG
TGCCCAGCAGGTTTAGCGGTTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTCACCATCAGCAGC
30 CTGCAGCCCGAAGACTTCGCTACCTACTACTGCCAGCAGGGACAAAGCTACCCCTGGAC
CTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAGGCCGCTGCCTTCGTGCCTGTTTTTCTGCC
CGCGAAACCCACAACCTACCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAACTATCGCTT
CCCAACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCGGCGCCGTGCA
CACTAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCTTGCCGGGACATG
35 CGGGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACCGCTTTTC

CGTCGTTAAGCGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCC
GGTCCAAACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAG
GGCGGGTGCGAACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCA
GGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTT
TGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCC
5 CAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATA
GGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCA
GCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCA
AGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGA
AAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTG
10 CTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGG
CCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACA
ACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAGTGACATTCAGCGA
TGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCAT
GTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCA
15 GGACGAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTC
GTGTTCAAGTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTAC
AGCGACGAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGA
ACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGG
AGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCA
20 AGAACCGGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGA
CGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATT
CCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTT
AAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:45)

AA del constructo S2-1A1-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

25 **MALPVTALLLPLALLHAARP**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTTYWMH
WVRQAPGQGLEWMGEINPSSGRTNYNEKFKTRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYC
AKLGPGPQYYAMDYWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
TITCHASQNINWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASKLHTGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDF
ATYYCQQGQSYPTWFGQGTKLEIKAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
30 CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCNHRNRFVVKRGRKKLLYIFK
QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
EYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKHDGLY
QGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGP
RLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSD
35 VVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVF

SCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWIT
RSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAA
VVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:46)

ADN del constructo S2-7A4-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
5 CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAAGTTATGATATCAACTGGGT
GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAAGTCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
10 GTGGGAGAGCCGTTACTACTACTCTCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTTACCAGCAGCTCCTTTGCTTGGTACCAACAGA
AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCATC
15 CCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG
GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGTCGTTCCGGC
CAAGGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAACGG
AACAATCATTACAGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATC
CAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGT
20 CACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGAT
TACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCA
CCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGCTTTTCCGTCGTTAAGCGGGGGAGAAAA
AAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGAG
GACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTGA
25 AGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACG
AGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGAC
CCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCT
GCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAA
GGGGAAAAGGGCACGACGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTAT
30 GACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGG
GCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCC
GGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGT
GTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAAT
GTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACAGACA
35 GTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAAGTACATTGAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCT

TGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTCTGAAGCC
GATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGT
GAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTAGTTGCCAGGATAAGCA
AAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTCTG
ACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACG
5 CGCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACAC
CTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAG
CAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAA
CCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGA
GCCGTGGTCTGTTGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
10 NO:47)

AA del constructo S2-7A4-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINW
VRQATGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYC
15 GRAGYYYYFGMDVWGQGTITVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSFAWYQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQYGGSRSGQGTKEVLRKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWL
VVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYR
SRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ
20 QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLTTCGDVEEN
PGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECKACNLGEGVAQPCG
ANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETT
GRCEACRVCEAGSLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLREC
25 TRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVTTVMGSSQPV
VTRGTTDNLIPVYCSILAAVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:48)

ADN del constructo S2-7A4-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
30 AGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAAGTTATGATATCAACTGGGT
GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAAGTGGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
GTGGGAGAGCCGTTACTACTACTCTCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
35 GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA

GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTTACCAGCAGCTCCTTTGCTTGGTACCAACAGA
AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCATC
CCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG
GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGTCGTTCCGGC
5 CAAGGGACCAAGGTGGAAC TCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAACGG
AACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATC
CAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGT
CACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGAT
TACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCA
10 CCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCA
CCAGCGTATCAGCAGGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGA
AGAGTATGACGTTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAA
GACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAA
GCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGGCACGACGGTTT
15 GTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCT
GCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGT
GGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGG
ATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAG
GCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACTTGGC
20 GAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAAC CAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCA
GTGACATT CAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTG
GGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGC
CTATGGATATTACCAGGACGAAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAG
CCGGCTCTGGCCTCGTGTT CAGTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTG
25 CAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTC
TGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCG
AGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACA
GCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGTTCTACAGT
TGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAA
30 CCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAG
CCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:49)

AA del constructo S2-7A4-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSFTSYDINW
35 VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYYC

GRAGYYYYFGMDVWGQTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSSFAWYQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQYGGSRSGQGTVELKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPGPSKPFVWL
VVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYR
SRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
5 NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGE
GRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECC
KACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDA
VCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPC
PCTVCEDTERQLRECTRWADAEECEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTV
10 AGVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:50)

ADN del constructo S2-7A4-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAAGTTATGATATCAACTGGGT
15 GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAAGTCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
GTGGGAGAGCCGGTTACTACTACTCTCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
20 GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTTACCAGCAGCTCCTTTGCTTGGTACCAACAGA
AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCATC
CCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG
GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGTCGTTCCGGC
25 CAAGGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAACGG
AACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATC
CAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGT
CACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTCGCTTTTCCGTCGTTAAGCGGGGGAGAAAAA
GCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGAGGA
30 CGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTGAAG
TTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAG
CTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCC
TGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGAGGGTCTCTATAATGAGCTGC
AGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGG
35 GGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGA

CGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGC
CGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGG
CGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGT
CTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGT
TGCAAAGCCTGTAACCTTGCGGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGT
5 CTGTGAACCATGCCTGGATTCAAGTACATTAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTG
CAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGGAAGCCG
ATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGTG
AGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCAAGTTGCCAGGATAAGCAA
AACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTGCA
10 CCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGC
GCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGATGGATACCCGGAGCACACC
TCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCCCTCCAGAGC
AGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAAC
CAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAG
15 CCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
NO:51)

AA del constructo S2-7A4-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINW
20 VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC
GRAGYYYYFGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSFAWYQQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQYGGSRSGFGQGTKVELKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWL
VVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRFVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE
25 EGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNP
QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKR
SGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTH
SGECCACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCV
EADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANH
30 VDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQD
LIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLPVYCSILAAVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:52)

ADN del constructo S2-7A4-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
35 AGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGT

GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
GTGGGAGAGCCGGTTACTACTACTTTCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
5 GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTTACCAGCAGCTCCTTTGCTTGGTACCAACAGA
AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGGCCACTGGCATC
CCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG
GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGTCGTTCCGGC
10 CAAGGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGAGCCGCTGCCTTCGTGCCTGTTTTCTGCCCGC
GAAACCCACAAGTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAACTATCGCTTCCCA
ACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCGGCGCCGTGCACACT
AGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGGACATGCGG
GGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACAGATCCAAAAG
15 AAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAG
GAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAA
GTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGA
GCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACC
CTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTG
20 CAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAG
GGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATG
ACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGG
CCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCG
GCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTG
25 TCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATG
TTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTTGGTGCTAACCAGACAGT
CTGTGAACCATGCCTGGATTCACTGACATTCACTGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTG
CAAGCCTTGTAACGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCCG
ATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAAACTACCGGGCGGTGTG
30 AGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCACTTGCCAGGATAAGCAA
AACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTCGA
CCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGC
GCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACC
TCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCAGGAGGCCCTCCAGAGC
35 AGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAAC

CAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAG
CCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
NO:53)

AA del constructo S2-7A4-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSYDINW

5 VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC
GRAGYYYYFGMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSSFAWYQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQYGGSRSGFGQGTKVELKRAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLHSDYMNMT
10 PRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLN
KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTA
TKDITYDALHMQALPPRAKRSRSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLL
LGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATE
PCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDK
15 QNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAEEIEIPGRWITRSTPPE
GSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLV
AYIAFKR (SEQ ID NO:54)

ADN del constructo S2-7A4-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG

20 CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGT
GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
25 GTGGGAGAGCCGTTACTACTACTTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTCCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTTACCAGCAGCTCCTTTGCTTGGTACCAACAGA
AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCATC
30 CCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG
GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGTCGTTCCGGC
CAAGGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGAGCCGCTGCCTTCGTGCCTGTTTTTCTGCCCCG
GAAACCCACAAGTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAACTATCGCTTCCCA
ACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCGGCGCGCTGCACACT
35 AGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGGACATGCGG

GGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACCGCTTTTCCGT
CGTTAAGCGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGT
CCAAACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGC
GGGTGCGAACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGG
CCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGA
5 CAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAG
GAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGC
ATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCA
CTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGA
GAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAA
10 TCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTT
CTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCT
CTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACC
TTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAGTGACATTCAGCGATGT
TGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTC
15 CGCCCCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGA
CGAAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTG
TTCAGTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGC
GACGAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACG
CCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGA
20 TGGATACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGA
ACCGGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGA
CAGTCATGGGATCCTCACAACCAAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCT
GTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAG
AGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:55)

25 AA del constructo S2-7A4-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)
MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINW
VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYC
GRAGYYYYFGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSSFAWYQQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGDFTLTISRLEPEDF
30 AVYYCQQYGGSRSGQGKVELKRAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCNHRNRFVVKRGRKKLLYIFK
QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLY
QGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGP
35 RLLLLLLLVSLGGAKEACPTGLYTHSGECKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSD

VVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVF
SCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWIT
RSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAA
VVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:56)

ADN del constructo S2-7A5-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita)

5 ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGT
GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
10 AAGCACAGCCTACATGGAAGTCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
GTGGGAGAGCCGGTTACTACTACTTTCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTACCAGCAGCTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG
15 AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCAT
CCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACT
GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGGCGTTTCGG
CCAAGGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAACG
GAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCAT
20 CCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCG
TCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCTGCTCCATAGCGA
TTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGC
ACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGCTTTTCCGTCGTTAAGCGGGGGAGAAA
AAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGA
25 GGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTG
AAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAAC
GAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGA
CCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGGAGGTCTCTATAATGAGC
TGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAA
30 GGGGAAAAGGGCACGACGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTAT
GACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGG
GCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCC
GGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGT
GTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAAT
35 GTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACA

GTCTGTGAACCATGCCTGGATTCA GTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCT
TGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTCTGAAGCC
GATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGT
GAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCA GTTGCCAGGATAAGCA
AAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTCTG
5 ACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACG
CGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACAC
CTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCCCTCCAGAG
CAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAA
CCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCA
10 GCCGTGGTCTGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
NO:57)

AA del constructo S2-7A5-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINW
15 VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYYC
GRAGYYYYYFGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSSLAWYQQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQYGG SRAFGQGTKVELKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPGPSKPFVWL
VVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYR
20 SRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFP EEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQ
QGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGHDLGYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGDVEEN
PGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCACNLGEGVAQPCG
ANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCA YGYQDETT
25 GRCEACRVCEAGSLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLREC
TRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTVMGSSQPV
VTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:58)

ADN del constructo S2-7A5-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTA ACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
30 CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGT
GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGA ACTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
35 GTGGGAGAGCCGTTACTACTACTACTTCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG

GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTACCAGCAGCTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG
AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCAT
CCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACT
5 GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGGCGTTTCGG
CCAAGGGACCAAGGTGGAACCTCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAACG
GAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCAT
CCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCG
TCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCTGCTCCATAGCGA
10 TTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGC
ACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGC
ACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGG
AAGAGTATGACGTTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCA
AGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAA
15 GCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTT
GTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCT
GCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGT
GGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGG
ATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAG
20 GCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGC
GAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCA
GTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACGAATGTGTG
GGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGC
CTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAG
25 CCGGCTCTGGCCTCGTGTTCA GTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTG
CAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTGACCCCTTGCTTGCCGTGCACCGTC
TGCGAGGATAACGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCG
AGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACA
GCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGT
30 TGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAA
CCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAG
CCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:59)

AA del constructo S2-7A5-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINW
VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC
GRAGYYYYFGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSSLAWYQQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQYGGSRAFGQGTKVELKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPGPSKPFWVLV
5 VVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYR
SRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGE
GRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECC
KACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDA
10 VCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPC
PCTVCEDTERQLRECTRWADAEECEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTV
AGVVTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:60)

ADN del constructo S2-7A5-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
15 CACGCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAAGTTATGATATCAACTGGGT
GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAAGTCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
20 GTGGGAGAGCCGTTACTACTACTCTCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTTACCAGCAGCTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG
AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCAT
25 CCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACT
GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGGCGTTCCG
CCAAGGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAACG
GAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTACCCTTGTTCCCTGGTCCAT
CCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCG
30 TCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTCGCTTTTCCGTGCTTAAGCGGGGGAGAAAAAA
GCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGAGGA
CGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTGAAG
TTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAG
CTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCC
35 TGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGC

AGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGG
GGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGA
CGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGC
CGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGG
CGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGT
5 CTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGT
TGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACACAGACAGT
CTGTGAACCATGCCTGGATTCAAGTACATTGAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTG
CAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCCG
ATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGTG
10 AGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCAAGTTGCCAGGATAAGCAA
AACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTGCA
CCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGC
GCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACC
TCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGAGGCCCCCTCCAGAGC
15 AGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAAC
CAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAG
CCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
NO:61)

AA del constructo S2-7A5-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
20 subrayadas)

MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSYDINW
VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC
GRAGYYYYFGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSSLAWYQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
25 AVYYCQQYGGSRAFGQGTKVELKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWL
VVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE
EGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNP
QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKR
SGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTH
30 SGECKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCV
EADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANH
VDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQD
LIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLPVYCSILAAVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:62)

ADN del constructo S2-7A5-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAAGTTATGATATCAACTGGGT
GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
5 AAGCACAGCCTACATGGAAGTCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
GTGGGAGAGCCGGTTACTACTACTTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTTACCAGCAGCTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG
10 AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCAT
CCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACT
GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTGGCTCACGGGCGTTCCGG
CCAAGGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGAGCCGCTGCCTTCGTGCCTGTTTTTCTGCCCG
CGAAACCCACAAGTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAAGTCTGCACCAACTATCGCTTCCC
15 AACCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCGGCGCCGTGCACAC
TAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGGACATGCG
GGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACAGATCCAAAA
GAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAA
GGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGA
20 AGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACG
AGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGAC
CCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCT
GCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAA
GGGGAAAAGGGCACGACGTTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTAT
25 GACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGG
GCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCC
GGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGT
GTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAAT
GTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACA
30 GTCTGTGAACCATGCCTGGATTTCAGTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCT
TGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTGCAAGCC
GATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAAACTACCGGGCGGTGT
GAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTTCAGTTGCCAGGATAAGCA
AAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGGCGAACACAGTCG
35 ACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACG

CGCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACAC
CTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAG
CAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAA
CCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCA
GCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID
5 NO:63)

AA del constructo S2-7A5-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFTSYDINW
VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC
GRAGYYYYFGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
10 SCRAQSVTSSSLAWYQKPGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQYGGSRAFGQGTKVELKRAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLHSDYMNMT
PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLN
KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQGLSTA
15 TKDITYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLL
LGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATE
PCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDK
QNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAEEIIPGRWITRSTPPE
GSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLV
20 AYIAFKR (SEQ ID NO:64)

ADN del constructo S2-7A5-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACAGCTTCACCAAGTTATGATATCAACTGGGT
25 GCGACAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTGGATGAACCCGAACAGTGGT
AACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAAGTCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACT
GTGGGAGAGCCGTTACTACTACTCTCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAA
30 GTGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA
CCCTCTCCTGCAGGGCCGGTCAGAGTGTTACCAGCAGCTCCTTAGCTTGGTACCAGCAG
AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATCAGACATCCACCAGGGCCACTGGCAT
CCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGACT
GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTGGCTCACGGGCGTTCCGG
35 CCAAGGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGAGCCGCTGCCTTCGTGCCTGTTTTTCTGCCCG

CGAAACCCACAACACTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAACTATCGCTTCCC
AACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCGCGGCAGGCGGGCGCCGTGCACAC
TAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGGACATGCG
GGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACCGCTTTTCCG
TCGTTAAGCGGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGG
5 TCCAAACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGC
GGGTGCGAACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGG
CCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGA
CAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAG
GAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGC
10 ATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCA
CTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGA
GAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAA
TCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTT
CTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCT
15 CTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACTTGGCGAGGGCGTCGCACAACC
TTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAGTGACATTCAGCGATGT
TGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTC
CGCCCCCTGTGTGCAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGA
CGAAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTG
20 TTCAGTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGC
GACGAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACG
CCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGA
TGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGA
ACCGGAGGCCCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGA
25 CAGTCATGGGATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCT
GTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAG
AGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:65)

AA del constructo S2-7A5-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR subrayadas)

MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFTSYDINW
30 VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC
GRAGYYYYFGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATL
SCRAGQSVTSSSLAWYQKPKGQAPRLLIYQTSTRATGIPDRFSGSGSGDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQYGGSRAFGQGTKVELKRAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCNHRNRFVVKRGRKKLLYIFK
35 QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE

EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY
QGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGP
RLLLLLLGLVSLGGAKEACPTGLYTHSGECKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSD
VVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVF
SCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAEECEIPGRWIT
5 RSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAA
VVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:66)

ADN del constructo S2-14C1-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
10 AGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGT
GCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAATAGTGGTG
GCACAACTCTGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATC
AGTACAGCCTACATGGAGCTGAACAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTACTGT
GCGAGAGGATGGCTACAGACGTACTACTTTGACAACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC
15 CGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAAGTGAC
ATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCAT
CTACTGCAAGTCCAGCCAGACTGTTTTGACCAGCTCCAACAATAAGAACTTCTTAGCTTGG
TACCAACAGAACTAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTCTGGGCCTCTACCCGGGAA
TCCGGGGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT
20 CAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAATTTATTACTGTCAGCACTATTATACTAGTCCA
CTCACTTTCGGCGGCGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGA
AAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTT
CCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTA
CTCTCTGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTG
25 CTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTAC
CAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCCGCTTTTCCGTCGTAAAG
CGGGGGAGAAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACG
ACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCG
AACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAAC
30 CAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCG
CAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGT
CTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAA
GGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTA
CGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGT
35 GGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGG

GGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCT
GCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACA
CTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTG
GTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTGAGTACATTGACGATGTTGTCT
CAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCC
5 CCCTGTGTGCGAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAA
ACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTC
GTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGAC
GAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCA
GCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGATCCCTGGGAGATGG
10 ATACCCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACC
GGAGGCCCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAG
TCATGGGATCCTCACAACCAAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCT
ACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGAT
GACCTAGGTAA (SEQ ID NO:67)

15 AA del constructo S2-14C1-CD28T-CD28-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMH
WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNSAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYY
CARGWLQTYFDNWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATI
20 YCKSSQTVLTSSNNKNFLAWYQQKLGQPPKLLISWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSSL
QAEDVAIYYCQHYYTSPLTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPF
WVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF
AAYRSRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA
PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEA
25 YSEIGMKGERRRGKGHDLGYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGDV
EENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECKACNLGEGVAQ
PCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQD
ETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQL
RECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSS
30 QPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:68)

ADN del constructo S2-14C1-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACG
CCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTG
35 AAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGTGCGA

CAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAATAGTGGTGGCAC
AAACTCTGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGTAC
AGCCTACATGGAGCTGAACAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTACTGTGCGAG
AGGATGGCTACAGACGTACTACTTTGACAACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTAT
CCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAAGTGACATCGT
5 GATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCTACT
GCAAGTCCAGCCAGACTGTTTTGACCAGCTCCAACAATAAGAACTTCTTAGCTTGGTACCA
ACAGAACTAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTCTGGGCCTCTACCCGGGAATCCGG
GGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCA
GCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAATTTATTACTGTCAGCACTATTATACTAGTCCACTCAC
10 TTTCCGGCGGCGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGT
CAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTG
GTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTC
TGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCA
TAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCC
15 TTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGC
AGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGAC
GCAGGGAAGAGTATGACGTTTTTGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGG
CAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGAT
GGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACG
20 ACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGC
AAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCT
TACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGG
GCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGC
TAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAA
25 CCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCC
TGGATTCAGTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACG
AATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTCTGAAGCCGATGATGCAGTGTGC
AGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGT
GTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTCACTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGA
30 GGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTGACCCCTTGCTTGCCGT
GCACCGTCTGCGAGGATAACGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGC
TGAGTGCAGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAG
ACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCT
TCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAGTCGTGACGCG

GGGCACAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGG
CCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:69)

AA del constructo S2-14C1-CD28T-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMH
5 WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNSAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYY
CARGWLQTYTFDNWGGQTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATI
YCKSSQTVLTSSNNKNFLAWYQQKLGQPPKLLISWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSSL
QAEDVAIYYCQHYYTSPLTFGGGKTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPF
WVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF
10 AAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQ
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRAKRS
GSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHS
GECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVE
ADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHV
15 DPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLI
ASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:70)

ADN del constructo S2-14C1-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
20 AGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGT
GCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAATAGTGGTG
GCACAACTCTGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATC
AGTACAGCCTACATGGAGCTGAACAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTACTGT
GCGAGAGGATGGCTACAGACGTACTACTTTGACAACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC
25 CGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAAGTGAC
ATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCAT
CTACTGCAAGTCCAGCCAGACTGTTTTGACCAGCTCCAACAATAAGAACTTCTTAGCTTGG
TACCAACAGAACTAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTCTGGGCCTCTACCCGGGAA
TCCGGGGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT
30 CAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAATTTATTACTGTCAGCACTATTATACTAGTCCA
CTCACTTTTCGGCGGCGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAGCCGCTGCCCTTGATAATGA
AAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTT
CCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTA
CTCTCTGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTCGCTTTTCCGTCGTAAAGCGG
35 GGGAGAAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTATGAGGCCGGTCCAAACGACT

5 CAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAGGAGGAGGGCGGGTGCGAAC
TGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAA
CTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAG
AGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGGAGGGTCTCT
ATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAG
AGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAG
10 GATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAG
CGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCT
ATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTT
GTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTCACT
CCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCT
AACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCACTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCC
ACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTACCGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGT
GTCGAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACC
GGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTTCAGTTGCC
15 AGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCG
AACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAG
AGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACC
CGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGC
CCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGG
20 GATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCTGTCTACTGTA
GCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTA
GGTAA (SEQ ID NO:71)

AA del constructo S2-14C1-CD28T-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

25 **MALPVTALLLPLALLHAARP**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMH
WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNSAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYY
CARGWLQTYYFDNWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATI
YCKSSQTVLTSSNNKNFLAWYQQKLGQPPKLLISWASTRESGVPRFSGSGSGTDFTLTSSL
QAEDVAIYYCQHYYTSPLTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPF
30 WVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF
PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPGEMGGKPR
RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQLSTATKDITYDALHMQALPP
RAKRSGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMGAGATGRAMDGPRLLLLLLLGVSLGGAKEACPTG
LYTHSGECCACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMS
35 APCVEADDAVCRCAYGYYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYS

EANHVDPLPCTVCEDTERQLRECTRWADAEEIIPGRWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAP
PEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID
NO:72)

ADN del constructo S2-14C1-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
5 CACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGT
GCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAATAGTGGTG
GCACAACTCTGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATC
AGTACAGCCTACATGGAGCTGAACAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTACTGT
10 GCGAGAGGATGGCTACAGACGTACTACTTTGACAACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC
CGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAAGTGAC
ATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCAT
CTACTGCAAGTCCAGCCAGACTGTTTTGACCAGCTCCAACAATAAGAACTTCTTAGCTTGG
TACCAACAGAACTAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTCTGGGCCTCTACCCGGGAA
15 TCCGGGGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT
CAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAATTTATTACTGTCAGCACTATTATACTAGTCCA
CTCACTTTCGGCGGCGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAGCCGCTGCCTTCGTGCCTGT
TTTTCTGCCCCGCGAAACCCACAACCTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAAC
TATCGCTTCCCAACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCGGCG
20 CCGTGCACTAGAGGCCTGGACTTCGCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCG
GGACATGCGGGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACA
GATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTG
GCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTCTGCTGCCTATCGGA
GCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAA
25 CTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAG
AGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCT
ATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAG
AGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAG
GATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGGCCAAGAGAAGTGGCAG
30 CGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGTGGAAGAAAATCCGGGGCCT
ATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCGCGACTGCTTCTCCTGCTGTT
GTTGGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCCAACGGGCCTCTACACTACT
CCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGGCGAGGGCGTCGCACAACCTTGTGGTGCT
AACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCACTGACATTCAGCGATGTTGTCTCAGCC
35 ACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACGAATGTGTGGGCCTTCAGTCCATGTCCGCCCCCTGT

GTCGAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGATATTACCAGGACGAACTACC
GGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCTGGCCTCGTGTTTCAGTTGCC
AGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGGAACCTACAGCGACGAGGCG
AACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGGATACCGAACGCCAGCTGAG
AGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCAGAGGAGATCCCTGGGAGATGGATCACC
5 CGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGAGTACCCAAGAACCGGAGGC
CCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGCGTGGTGACGACAGTCATGG
GATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAATCTGATTCCTGTCTACTGTA
GCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACATCGCCTTTAAGAGATGACCTA
GGTAA (SEQ ID NO:73)

10 AA del constructo S2-14C1-C8K-CD28 (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTGYMH
WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNSAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYY
CARGWLQTYFDNHWGQGLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATI
15 YCKSSQTVLTSSNNKNFLAWYQQKLGQPPKLLISWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSSL
QAEDVAIYYCQHYYSPLTFGGGTKVEIKRAAFVFPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSL
RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSLHSDY
MNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE
YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQ
20 GLSTATKDTYDALHMQALPPRAKRSGSGEGRGSLLTGCDVEENPGPMGAGATGRAMDGPR
LLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVTFSDV
VSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFS
CQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPGRWITR
STPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYCSILAAV
25 VVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:74)

ADN del constructo S2-14C1-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTC
AGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGT
30 GCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCTAATAGTGGTG
GCACAACTCTGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATC
AGTACAGCCTACATGGAGCTGAACAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTACTGT
GCGAGAGGATGGCTACAGACGTACTACTTTGACAACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC
CGTATCCTCAGGAGGCGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAAGTGAC
35 ATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCAT

5

10

15

20

25

30

CTACTGCAAGTCCAGCCAGACTGTTTTGACCAGCTCCAACAATAAGAACTTCTTAGCTTGG
TACCAACAGAACTAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTCTGGGCCTCTACCCGGGAA
TCCGGGGTCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTACCAT
CAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAATTTATTACTGTCAGCACTATTATACTAGTCCA
CTCACTTTTCGGCGGCGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAGCCGCTGCCTTCGTGCCTGT
TTTTCTGCCCCGCGAAACCCACAACCTACCCCCGCCCCCTCGGCCCCCAACTCCTGCACCAAC
TATCGCTTCCCAACCCCTGTCTCTGAGACCTGAGGCATGCCGCCCCGCGGCAGGCGGGC
CCGTGCACACTAGAGGCCTGGACTTCGCCTGCGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCG
GGACATGCGGGGTACTGCTGCTGTCTCTGGTGATTACCCTCTACTGCAACCACAGAAACC
GCTTTTCCGTCTTAAGCGGGGGAGAAAAAGCTGCTGTACATTTTCAAACAGCCGTTTAT
GAGGCCGGTCCAAACGACTCAGGAAGAGGACGGCTGCTCCTGCCGCTTTCCTGAGGAG
GAGGAGGGCGGGTGCGAACTGAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTA
TCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATG
ACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAA
AACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCT
GAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGG
GACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTA
GGGCAAGAGAAAGTGGCAGCGGGGAGGGCCGGGGATCTCTCCTTACATGTGGGGACGT
GGAAGAAAATCCGGGGCCTATGGGTGCCGGCGCCACGGGAAGGGCTATGGATGGCCCC
CGACTGCTTCTCCTGCTGTTGTTGGCGTGTCTCTCGGAGGCGCTAAGGAGGCCTGTCC
AACGGGCCTCTACACTCACTCCGGTGAATGTTGCAAAGCCTGTAACCTTGCGCAGGGGCG
TCGCACAACCTTGTGGTGCTAACCAGACAGTCTGTGAACCATGCCTGGATTCAGTGACAT
TCAGCGATGTTGTCTCAGCCACCGAGCCTTGCAAGCCTTGTAACGAATGTGTGGGCCTTC
AGTCCATGTCCGCCCCCTGTGTCTGAAGCCGATGATGCAGTGTGCAGATGTGCCTATGGAT
ATTACCAGGACGAACTACCGGGCGGTGTGAGGCCTGCCGGGTGTGTGAAGCCGGCTCT
GGCCTCGTGTTTCAAGTTGCCAGGATAAGCAAAACACAGTATGTGAGGAGTGTCCAGACGG
AACCTACAGCGACGAGGCGAACCACGTCGACCCTTGCTTGCCGTGCACCGTCTGCGAGG
ATACCGAACGCCAGCTGAGAGAGTGTACGCGCTGGGCAGACGCTGAGTGCGAGGAGAT
CCCTGGGAGATGGATCACCCGGAGCACACCTCCTGAGGGATCAGACAGTACAGCCCCGA
GTACCCAAGAACCGGAGGCCCCCTCCAGAGCAGGACCTGATCGCTTCTACAGTTGCTGGC
GTGGTGACGACAGTCATGGGATCCTCACAACCAGTCGTGACGCGGGGCACAACCGACAA
TCTGATTCCTGTCTACTGTAGCATCTTGGCAGCCGTGGTCGTGGGCCTGGTAGCCTACAT
CGCCTTTAAGAGATGACCTAGGTAA (SEQ ID NO:75)

AA del constructo S2-14C1-C8K-41BB (secuencia de señal en negrita; CDR
subrayadas)

35

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMH
WVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNSAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYY
CARGWLQTYTFDNWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATI
YCKSSQTVLTSSNNKNFLAWYQQKLGQPPKLLISWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTSSL
QAEDVAIYYCQHYYTSPLTFGGGKTKVEIKRAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSL
5 RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRFSSVVKRGRKKL
LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL
GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH
DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRAKRSGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMGAGATGRA
MDGPRLLLLLLLLGVSLGGAKEACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSV
10 TFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYGYQDETTGRCEACRVCEAGS
GLVFSCQDKQNTVCEECPDGTYSDEANHVDPCLPCTVCEDTERQLRECTRWADAECEEIPG
RWITRSTPPEGSDSTAPSTQEPEAPPEQDLIASTVAGVVTTVMGSSQPVVTRGTTDNLIPVYC
SILAAVVVGLVAYIAFKR (SEQ ID NO:76)

AA de STEAP1 humana NM_012449 (NP_036581)

15 MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYLHKDTGETSMLKRPVLLHLHQTAHADEFDC
PSELQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPMSITLL
ALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKKFPHWLDKWMLTRKQFGLLSFFFVLAHAIYSLSYPMRRSYRY
KLLNWAYQQVQQNKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPSVSDSLTWREFHYIQ
SKLGIVSLLLGTIHALIFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIVVLIKFSILFLPCLRKKILKIRHG
20 WEDVTKINKTEICSQL (SEQ ID NO:77)

ADN del péptido señal de CAR

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG
CACGCCCCG (SEQ ID NO:78)

Péptido señal de CAR: MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:79)

25 ADN del enlazador de scFv G4S

GGCGGTGGAGGCTCCGGAGGGGGGGGCTCTGGCGGAGGGGGCTCC (SEQ ID
NO:80)

Enlazador de scFv G4S: GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:81)

ADN del enlazador de scFv Whitlow

30 GGGTCTACATCCGGCTCCGGGAAGCCCGGAAGTGGCGAAGGTAGTACAAAGGG
G (SEQ ID NO:82)

Enlazador de scFv Whitlow: GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO:83)

Secuencia de ácido nucleico de 4-1BB (dominio intracelular)

AAGCGCGGCAGGAAGAAGCTCCTCTACATTTTAAAGCAGCCTTTTATGAGGCCCG
TACAGACAACACAGGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCAGATTTCCTGAGGAGGAGGAAGGT
GGGTGCGAGCTG (SEQ ID NO:84)

4-1BB AA (dominio intracelular)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL (SEQ ID NO:85)

5 OX40 AA
RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO:86)

INCORPORACIÓN POR REFERENCIA

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente mencionadas en esta especificación se incorporan en la presente como referencia en la misma medida que si cada publicación individual, patente o solicitud de patente estuviera específica e individualmente indicada para su incorporación como referencia. Sin embargo, la cita de una referencia en la presente no debe interpretarse como un reconocimiento de que dicha referencia es técnica anterior a la presente invención. En la medida en que cualquiera de las definiciones o términos proporcionados en las referencias incorporadas por referencia difieran de los términos y discusiones proporcionadas en la presente, prevalecerán los presentes términos y definiciones.

EQUIVALENTES

La memoria descriptiva escrita anterior se considera suficiente para permitir a un experto en la materia poner en práctica la invención. La descripción anterior y los ejemplos detallan modalidades preferidas de la invención y describen el mejor modo contemplado por los inventores. Sin embargo, se apreciará que, independientemente del grado de detalle que pueda aparecer en el texto anterior, la invención puede ponerse en práctica de diversos modos y la invención ha de interpretarse de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas y cualquier equivalente de las mismas.

Los siguientes ejemplos, incluyendo los experimentos llevados a cabo y los resultados logrados, se proporcionan solo con fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes de la presente invención.

EJEMPLO 1

Se cultivaron líneas celulares PNT-2, LNCaP, PC-3, 22Rv1, C4-2B y DU145 en medio RPMI1640 (Lonza) + FBS al 10 % (Corning) + 1X penicilina estreptomycin L-glutamina (Corning) (R10) y se mantuvo a una densidad celular entre $0.5-2.0 \times 10^6$ células/ml. PNT-2 y DU145 son líneas celulares de control negativo. Para examinar la expresión de STEAP1 en la superficie celular, se incubaron las células con un anticuerpo anti-STEAP1 (2F3) o un anticuerpo de control de isotipo IgG1 (BD Pharmingen) en tampón de tinción (BD Pharmingen) durante 30 minutos a 4 °C. Luego, las células se lavaron y se resuspendieron en tampón de tinción con

yoduro de propidio (BD Pharmingen) antes de la adquisición de los datos. La expresión de STEAP1 en las células diana se muestra en la FIGURA 1.

EJEMPLO 2

Los plásmidos que codifican un promotor T7, el constructo CAR y una secuencia estabilizadora de beta globina se linealizaron mediante digestión durante la noche de 10 µg de ADN con EcoRI y BamHI (NEB). Luego se digirió el ADN durante 2 horas a 50 °C con proteinasa K (Thermo Fisher, 600 U/ml), se purificó con fenol/cloroformo y se precipitó mediante la adición de acetato de sodio y dos volúmenes de etanol. Luego se secaron los sedimentos, se resuspendieron en agua sin ARNasa/ADNasa y se cuantificaron usando NanoDrop. Luego se utilizó un µg del ADN lineal para la transcripción in vitro utilizando el mMMESSAGE mMACHINE T7 Ultra (Thermo Fisher) siguiendo las instrucciones del fabricante. El ARN se purificó adicionalmente utilizando el kit MEGAClear (Thermo Fisher) siguiendo las instrucciones del fabricante y se cuantificó utilizando NanoDrop. La integridad del ARNm se evaluó utilizando la movilidad en un gel de agarosa. Las PBMC se aislaron de leucopaks de donantes sanos (Hemacare) utilizando una centrifugación de densidad ficoll-paque según las instrucciones del fabricante. Las PBMC se estimularon utilizando OKT3 (50 ng/ml, Miltenyi Biotec) en medio R10 + IL-2 (300 UI/ml, Proleukin®, Prometheus® Therapeutics and Diagnostics). Siete días después de la estimulación, las células T se lavaron dos veces en medio Opti-MEM (Thermo Fisher Scientific) y se resuspendieron a una concentración final de 2.5×10^7 células/ml en medio Opti-MEM. Se usaron diez µg de ARNm por electroporación. La electroporación de las células se realizó utilizando un sistema Gemini X2 (Harvard Apparatus BTX) para administrar un solo pulso de 400 V durante 0.5 ms en cubetas de 2 mm (Harvard Apparatus BTX). Las células se transfirieron inmediatamente a medio R10 + IL-2 y se dejaron recuperar durante 6 horas. Para examinar la expresión de CAR, las células T se tiñeron con LNGFR o Proteína L biotinilada (Thermo Scientific) en tampón de tinción (BD Pharmingen) durante 30 minutos a 4 °C. Luego, las células se lavaron y se tiñeron con anti-LNGFR-PE o estreptavidina PE (BD Pharmingen) en tampón de tinción durante 30 minutos a 4 °C. Luego, las células se lavaron y se resuspendieron en tampón de tinción con yoduro de propidio (BD Pharmingen) antes de la adquisición de los datos. La expresión de CAR de STEAP1 en células T electroporadas se muestra en la FIGURA 2.

EJEMPLO 3

Para examinar la actividad citolítica en células T de CAR de STEAP1 electroporadas, se cultivaron células efectoras con células diana en una relación E:D 1:1 en medio R10. Dieciséis horas después del cocultivo, los sobrenadantes se analizaron mediante Luminex (EMD Millipore) y se evaluó la viabilidad de las células diana mediante análisis de citometría de flujo de la absorción de yoduro de propidio (PI) por células CD3 negativas. La actividad citolítica de

las células T de CAR electroporadas se muestra en la FIGURA 3 y la producción de citocinas se muestra en la FIGURA 4.

EJEMPLO 4

Para evaluar la proliferación de células T de CAR en respuesta a las células diana que expresan STEAP1, las células T se marcaron con CFSE antes del co-cultivo con células diana en una relación E:D 1:1 en medio R10. Cinco días después, se evaluó la proliferación de células T mediante análisis de citometría de flujo de la dilución de CFSE. La proliferación de las células T de CAR de STEAP1 se muestra en la FIGURA 5.

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.