RECEPTORES DE ANTÍGENOS QUIMÉRICOS ESPECÍFICOS PARA EL MIEMBRO D DEL GRUPO 5 DE LA CLASE C DEL RECEPTOR ACOPLADO A PROTEÍNA G (GPRC5D)

Referencia cruzada con solicitudes relacionadas

[0001] Esta solicitud reivindica prioridad a las solicitudes provisionales de EE. UU.: 62/754,576, presentada el 1 de noviembre de 2018, titulada "RECEPTORES DE ANTÍGENOS QUIMÉRICOS ESPECÍFICOS PARA EL MIEMBRO D DEL GRUPO 5 DE LA CLASE C DEL RECEPTOR ACOPLADO A PROTEÍNA G (GPRC5D)"; 62/774,159, presentada el 30 de noviembre de 2018, titulada "RECEPTORES DE ANTÍGENOS QUIMÉRICOS ESPECÍFICOS PARA EL MIEMBRO D DEL GRUPO 5 DE LA CLASE C DEL RECEPTOR ACOPLADO A PROTEÍNA G (GPRC5D)"; 62/819,422 presentada el 15 de marzo de 2019, titulada "RECEPTORES DE ANTÍGENOS QUIMÉRICOS ESPECÍFICOS PARA EL MIEMBRO D DEL GRUPO 5 DE LA CLASE C DEL RECEPTOR ACOPLADO A PROTEÍNA G (GPRC5D)"; 62/904,197 presentada el 23 de septiembre de 2019, titulada "RECEPTORES DE ANTÍGENOS QUIMÉRICOS ESPECÍFICOS PARA EL MIEMBRO D DEL GRUPO 5 DE LA CLASE C DEL RECEPTOR ACOPLADO A PROTEÍNA G (GPRC5D)"; y 62/904,187, presentada el 23 de septiembre de 2019, titulada "CONSTRUCCIÓN POLINUCLEÓTIDA BICISTRÓNICA QUE CODIFICA LOS RECEPTORES ANTÍGENOS QUIMÉRICOS," y cuyos contenidos se incorporan por referencia en su totalidad para todos los fines.

Incorporación como referencia de listado de secuencias

[0002] La solicitud actual se presenta junto con un listado de secuencias en formato electrónico. Se proporciona el listado de secuencias como un archivo titulado 735042013741SeqList.TXT, creado el 27 de octubre de 2019, y tiene un tamaño de 294 kilobytes. La información en formato electrónico del listado de secuencias se incorpora como referencia en su totalidad.

Campo de la Invención

[0003] La divulgación actual se refiere a, en algunos aspectos, los receptores antígenos quiméricos (CAR), que contienen partes de anticuerpos específicas al miembro D del grupo 5 de la clase C del receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) y polinucleótidos que codifican CAR específicos para el GPRC5D. Esta divulgación se refiere, además, a las células diseñadas genéticamente que contienen dichos receptores de unión al GPRC5D, y se usan, de allí en adelante, en la terapia celular adoptiva.

Antecedentes de la invención

[0004] El miembro D del grupo 5 de la clase C del receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) es un receptor acoplado a proteína G, cuya función específica no se ha determinado todavía. La expresión del GPRC5D es alta en las muestras de la médula ósea de los pacientes con mieloma múltiple (MM) en comparación con la expresión mínima del GPRC5D en las

muestras de la médula ósea de los pacientes con otras neoplasias hemáticas. Según su expresión, el GPRC5D puede ser un marcador de los tumores del MM y una diana terapéutica. Varios receptores de antígenos quiméricos (CAR) de unión al GPRC5D y las células que expresan dichos receptores están disponibles. Sin embargo, todavía existe la necesidad de CAR de unión al GPRC5D mejorados y GPRC5D-CAR diseñados que expresan células dianas, tal como para usarse en terapia celular adoptiva. En el presente se proporcionan modalidades que cumplen con dichas necesidades.

Breve Descripción de la Invención

[0005] En el presente se proporcionan receptores de antígenos quiméricos que contienen lo siguiente: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente al miembro D del grupo 5 de la clase C del receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) humano, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una región de la cadena pesada variable (V_H) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en cualquier SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92

%, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 22, 24,2 6, 28, 30, 32 o 34; (2) un espaciador de al menos 125 aminoácidos en longitud; (3) un dominio transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular.

[0006] También se proporcionan receptores de antígenos quiméricos que contienen lo siguiente: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente al miembro D del grupo 5 de la clase C del receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) humano, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_H seleccionada dentro de cualquier SEQ ID n.°: .°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L seleccionada dentro de cualquier SEQ ID n.°: 22, 24,2 6, 28, 30, 32 o 34; (2) un espaciador de al menos 125 aminoácidos en longitud; (3) un dominio transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular.

[0007] También se proporcionan receptores de antígenos quiméricos que contienen lo siguiente: También se proporcionan receptores de antígenos quiméricos que contienen lo siguiente: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular

que se une específicamente al miembro D del grupo 5 de la clase C del receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) humano en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 1 (CDR-H1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 75, 78, 80, 82, 90, 93, 95, 97, 105, 108, 110, 112, 120, 123, 125, 127, 135, 138, 140, 142, 135, 152, 162, 165, 167 o 169; (b) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 2 (CDR-H2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 76, 79, 81, 83, 91, 94, 96, 98, 106, 109, 111, 113, 121, 124, 126, 128, 136, 139, 141, 143, 150, 153, 154, 155, 163, 166, 169 o 170; y (c) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 3 (CDR-H3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 77, 84, 92, 99, 107, 114, 133, 129, 137, 144, 151, 156, 164 o 171; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 1 (CDR-L1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 85, 88, 100, 103, 115, 118, 130, 133, 145, 148, 157, 160, 172 o 174; (b) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 2 (CDR-L2) que contiene la secuencia de aminoácido

seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 86, 89, 101, 104, 116, 119, 131, 134, 146, 149, 158 o 161; y (c) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 3 (CDR-L3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 87, 102, 117, 132, 147, 159, 173, 175, o 297; (2) un espaciador de al menos 125 aminoácidos en longitud; (3) un dominio transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular.

[0008] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular del receptor de antígeno quimérico contiene: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene: una secuencia de aminoácido que tiene al menos un identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en cualquier SEQ ID n.°:21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°:22, 24,26, 28, 30, 32 o 34.

[0009] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador tiene una longitud de, o de aproximadamente, 125 a 300 aminoácidos en longitud, 125 a 250

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

[00010] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador se deriva de una inmunoglobulina. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador contiene una secuencia de una región bisagra, una región de CH2 y CH3. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, una o más bisagras, CH2 y CH3 se derivan en su totalidad o en parte de la IgG4 o

IgG2, opcionalmente de la IgG4 humana o IgG2 humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la bisagra, CH2 y CH3 se deriva de la IgG4. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, una o más bisagras, CH2 y CH3 es quimérica y contiene una secuencia derivada de la IgG4 y IgG2. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador contiene una bisagra quimérica de la IgG4/2 o una IgG4 modificada que contiene al menos un reemplazo de aminoácido en comparación con la IgG4 humana, un CH2 quimérico de la IgG2/4 y una región CH3 de la IgG4.

[00011] en algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador es o contiene (i) la secuencia presentada en el SEQ ID n.°: 17; (ii) una variante funcional del SEQ ID n.°: 17 que tiene al menos una identidad de secuencia del 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:17; o (iii) una parte contigua de (i) o (ii) que es de al menos 125 aminoácidos en longitud. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador es o contiene la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:17. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador es o contiene una secuencia codificada por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:48 (también presentada en el SEQ ID n.°:74).

[00012] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y las regiones V_L contienen la

secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:21 y 22, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:21 y 22, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:23 y 24, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:23 y 24, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:25 y 26, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:25 y 26, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:29 y 30, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:29 y 30, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la

secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:31 y 32, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:31 y 32, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:33 y 34, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:33 y 34, respectivamente.

[00013] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:80, 81 y 77, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:85, 86 y 87, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:82, 83 y 84, respectivamente, y la región V_L contiene a CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:88, 89 y 87, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:95, 96, 92, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:100, 101 y 102,

respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:97, 98 y 99, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:103, 104 y 102, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:110, 111 y 107, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:115, 116 y 117, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:112, 113 y 114, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:118, 119 y 117, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:127, 128 y 129, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:133, 134 y 132, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de

aminoácido del SEQ ID n.°:140, 141 y 137, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:145, 146 y 147, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:142, 143 y 144, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:148, 149 y 147, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:140, 154 y 151, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:157, 158 y 159, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:142, 155 y 156, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:160, 161 y 159, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:167, 168 y 164, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:172, 86, 173, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:169, 170 y 171, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y

CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:174, 89 y 175, respectivamente; o la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:169, 170 y 171, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:174, 89 y 297, respectivamente.

[00014] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:21 y 22, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:23 y 24, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:25 y 26, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:29 y 30, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:31 y 32, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:33 y 34, respectivamente.

[00015] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y las regiones V_L contienen la

secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:21 y 22, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % al SEQ ID n.°:21 y 22, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:23 y 24, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % al SEQ ID n.°:23 y 24, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % al SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:31 y 32, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % al SEQ ID n.°:31 y 32, respectivamente.

[00016] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:80, 81 y 77, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de

aminoácido del SEQ ID n.°:85, 86 y 87, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:82, 83 y 84, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:88, 89 y 87, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:95, 96, 92, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:100, 101 y 102, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:97, 98 y 99, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:103, 104 y 102, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:127, 128 y 129, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:133, 134 y 132, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y

CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:140, 154 y 151, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:157, 158 y 159, respectivamente; o la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:142, 155 y 156, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:160, 161 y 159, respectivamente.

[00017] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:21 y 22, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:23 y 24, respectivamente; la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente; o la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:31 y 32, respectivamente.

[00018] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular es interreactivo o se une a GPRC5D murino y/o es interreactivo o se une a GPRC5D cinomolgo. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión

a antígeno extracelular no es interreactivo ni se une a GPRC5D ni a GPRC5D cinomolgo.

[00019] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L contienen la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente.

[00020] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el receptor de antígeno quimérico contiene una cadena pesada variable (V_H) que contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en el SEQ ID n.°: 27; y una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en el SEQ ID n.°: 28. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la

secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:127, 128 y 129, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:133, 134 y 132, respectivamente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:120, 121 y 122, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:123, 124 y 122, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y las regiones V_L contienen la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:27 y 28, respectivamente.

[00021] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular es un solo fragmento del anticuerpo en cadena. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el fragmento es o contiene un solo fragmento variable en cadena (scFv).

[00022] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L se unen mediante un conector flexible. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L se unen mediante un conector flexible que contiene la secuencia de aminoácido GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.°:52). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L se unen mediante un conector flexible. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L están unidas por un ligador que contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID N°:320).

[00023] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H es amino-terminal a la región V_L. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: , 3, 5, 7, 9, 11 o 13 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 1, 3, 5, 7, 9, 11 o 13. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 1, 3, 5, 7, 9, 11 o 13. En algunas de las modalidades cualesquiera

proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 1, 3, 7 u 11 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 1, 3, 7, o 11. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 1, 3, 7, o 11. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°: 7 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°: 7. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°: 7.

[00024] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H es carboxi-terminal a la región V_L. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: .°: 2, 4, 6, 8, 10, 12 o 14 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92

%, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 2, 4, 6, 8, 10, 12 o 14. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 2, 4, 6, 8, 10, 12 o 14. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 2, 4, 8 u 12 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 2, 4, 8, o 12. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 2, 4, 8, o 12. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°: 8 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°: 8. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°: 8. En algunas de cualesquiera de las modalidades proporcionadas, el

dominio de unión al antígeno se codifica por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 264

[00025] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular contiene un dominio de señalización citoplasmático intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) y/o contiene un motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular es o contiene un dominio de señalización citoplasmático de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o sus partes de señalización.

[00026] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular es humano o derivado de una proteína humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular es o contiene la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % al SEQ ID n.°:20.

[00027] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular contiene, además, región de señalización coestimuladora. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora contiene un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora de un linfocito T o una de sus partes de señalización. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora contiene un dominio de señalización intracelular de un CD28, un 4-1BB o un ICOS o una de sus partes de señalización. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB o una de sus partes de señalización. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora es humana o derivada de una proteína humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora contiene un dominio de señalización intracelular de CD28, como un dominio de señalización intracelular de CD28 humano.

[00028] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora es o contiene la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:46 o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de

secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°: 46. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora contiene un dominio de señalización intracelular de 4-1BB. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora es o contiene la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:19 o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°: 19.

[00029] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimuladora se encuentra entre el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana es o contiene un dominio transmembrana derivado de CD4, CD28 o CD8. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana es o contiene un dominio transmembrana derivado de un CD28. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana es humano o derivado de una proteína humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana es o contiene la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:18 o una secuencia de aminoácidos que exhibe

al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:18.

[00030] También se proporcionan receptores de antígenos quiméricos que contienen lo siguiente: : (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente al receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) humano, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en el SEQ ID n.°: 27; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 28; (2) un espaciador presentado en el SEQ ID n.°:17; (3) un dominio transmembrana derivado de un CD28 humano; y (4) una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización citoplasmático de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) y un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora de un linfocito T.

[00031] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y

CDR-H3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en el SEQ ID n.°: 27; y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en el SEQ ID n.°: 28; o la región V_H un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:127, 128 y 129, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:133, 134 y 132, respectivamente; la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:120, 121 y 122, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente; o la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:123, 124 y 122, respectivamente, y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenido dentro de la

secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en el SEQ ID n.°: 27; y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en el SEQ ID n.°: 28; o la región V_H contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°:125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L que contiene un CDR-H3L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente.

[00032] También se proporcionan receptores de antígenos quiméricos que contienen lo siguiente: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente al receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) humano, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene: una región variable pesada (V_H) que contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenido dentro de la V_H secuencia de aminoácido de la región presentada en el SEQ ID n.°: 27; y una región variable ligera (V_L) que contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en el SEQ ID n.°: 28; o una región V_H que contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:125, 126 y 122, respectivamente, y una región V_L que contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente; una región V_H que contiene un CDR-H1,

CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:127, 128 y 129, respectivamente, y una región V_L que contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:133, 134 y 132, respectivamente; una región V_H que contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:120, 121 y 122, respectivamente, y una región V_L que contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente; o una región V_H que contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:123, 124 y 122, respectivamente, y una región V_L que contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:130, 131 y 132, respectivamente; (2) un espaciador presentado en el SEQ ID n.°:17; (3) un dominio transmembrana derivado de un CD28 humano; y (4) una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización citoplasmático de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) humana y un dominio de señalización intracelular de un CD28 humano o un 4-1BB humano.

[00033] También se proporcionan receptores de antígenos quiméricos que contienen lo siguiente: (1) un dominio extracelular de unión a antígeno que se une específicamente al receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) humano, en el que

el dominio extracelular de unión a antígeno contiene: una región pesada variable (V_H) que contiene una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de la región V_H establecida en la SEQ ID N.°: 27; y una región ligera variable (V_L) que contiene una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en la SEQ ID N.°: 28; o una región V_H que contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS:125, 126 y 122, respectivamente, y una región V_L que contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS: 130, 131 y 132, respectivamente; (2) un espaciador establecido en SEQ ID N.°:17; (3) un dominio transmembrana derivado de un CD28 humano; y (4) una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización citoplásmica de una cadena zeta de un CD3-zeta humano (CD3ζ) y un dominio de señalización intracelular de un CD28 humano. También se proporcionan receptores de antígenos quiméricos que contienen lo siguiente: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente al receptor acoplado a proteína G (GPRC5D) humano, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene: una región variable pesada (V_H) que contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenido dentro de la V_H secuencia de aminoácido de la región presentada en el SEQ ID n.°: 27; y una región variable ligera (V_L) que contiene un

CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en el SEQ ID n.°: : 28; o una región V_H que contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS:125, 126 y 122, respectivamente, y una región V_L que contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS:130, 131 y 132, respectivamente; (2) un espaciador establecido en SEQ ID N.°: 17; (3) un dominio transmembrana derivado de un CD28 humano; y (4) una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización citoplásmica de una cadena zeta de un CD3-zeta humano (CD3ζ) y un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB humano.

[00034] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular contiene la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en el SEQ ID n.°:27 y la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en el SEQ ID n.°:28; y/o en algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular contiene un scFv presentado en el SEQ ID n.°:7 o SEQ ID n.°:8. En algunas de las modalidades proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular contiene la secuencia de aminoácidos de la región V_H establecida en la SEQ ID n.°:27 y la secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en la SEQ ID n.°:28; y el dominio de unión a antígeno extracelular

contiene un scFv establecido en la SEQ ID n.°:7. En algunas de las modalidades proporcionadas, el dominio extracelular de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácidos de la región V_H establecida en la SEQ ID n.°:27 y la secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en la SEQ ID n.°:28; y el dominio extracelular de unión a antígeno contiene un scFv establecido en la SEQ ID n.°:8.

[00035] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana es o contiene la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:18 o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:18. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana es o contiene la secuencia establecida en la SEQ ID N°:18.

[00036] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular contiene la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:20 y la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:46 o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°: 46. En algunas de las modalidades

cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular es o contiene la secuencias presentada en el SEQ ID n.°:20 y SEQ ID n.°:46. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular contiene la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:20 y la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:19 o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°: 19. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular es o contiene la secuencias presentada en el SEQ ID n.°:20 y SEQ ID n.°:19.

[00037] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el receptor de antígeno quimérico contiene de su terminal N a C en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

[00038] También se proporcionan polinucleótidos que contienen una secuencia de nucleótidos que codifican cualquiera de los receptores de antígenos quiméricos proporcionados aquí.

[00039] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el ácido nucleico que codifica el espaciador contiene al menos un sitio donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme modificado, dicho sitio donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme modificado que contiene una modificación nucleótida o más correspondiente a un sitio donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme de referencia contenido en la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:73. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, una modificación nucleótida o más contienen una sustitución de aminoácido. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el sitio donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme de referencia son sitios de empalme canónicos, no canónicos o crípticos. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el sitio donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme de referencia tiene un puntaje de predicción del sitio de empalme de al menos o aproximadamente 0.4, 0.5, 0.6, 0.70, 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.95, 0.99 o 1.0; y/o el sitio donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme de referencia se predice(n) que se involucre(n) en un evento de empalme con una probabilidad de al menos el 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 %.

[00040] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el sitio donante de empalme de referencia contiene la secuencia aatctaagtacggac (SEQ ID n.°: 176),

tcaactggtacgtgg (SEQ ID n.°:177), acaattagtaaggca (SEQ ID n.°:178) y/o accacaggtgtatac (SEQ ID n.°:179); y/o el sitio aceptor de empalme de referencia contiene la secuencia aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID n.°:180) y/o gggcaacgtgttctcttgcagtgtcatgcacgaagccctgc (SEQ ID n.°:181).

[00041] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el sitio donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme de referencia tiene un puntaje de predicción del sitio de empalme de al menos o aproximadamente 0.70, 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.95, 0.99 o 1.0; y/o en algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el sitio donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme de referencia se predice(n) que se involucre(n) en un evento de empalme con una probabilidad de al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 %.

[00042] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el sitio donante de empalme de referencia contiene la secuencia tcaactggtacgtgg (SEQ ID n.°:177); y/o el sitio aceptor de empalme de referencia contiene la secuencia aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID n.°:180).

[00043] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, al menos una modificación nucleótida o más se encuentran dentro de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos

de la unión del sitio de empalme del sitio aceptor de empalme y/o el sitio donante de empalme de referencia.

[00044] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, una modificación nucleótida o más es silenciosa y/o tiene como resultado un codón redundante en comparación con el SEQ ID n.°:73 y/o no cambia la secuencia de aminoácido del espaciador codificado.

[00045] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el sitio donante de empalme modificado se presenta en agtctaaatacggac (SEQ ID n.°:182), tcaactggtatgtgg (SEQ ID n.°:183), accatctccaaggcc (SEQ ID n.°:184) y/o gccccaggtttacac (SEQ ID n.°:185); y/o el sitio aceptor de empalme modificado se presenta en cagtttcttcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa (SEQ ID n.°:186), gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgc (SEQ ID n.°: 187) y/o cgccttgtcctccttgtcccgctcctcctgttgccggacct (SEQ ID n.°:188). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el sitio donante de empalme modificado se presenta en tcaactggtatgtgg (SEQ ID n.°:183), y/o el sitio aceptor de empalme modificado se presenta en cagtttcttcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa (SEQ ID n.°:186), y/o cgccttgtcctccttgtcccgctcctcctgttgccggacct (SEQ ID n.°:188).

[00046] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador es codificado por la secuencia

de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:74 (también presentada en el SEQ ID n.°:48) o una de sus partes. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador se codifica por una secuencia de nucleótido presentada en el SEQ ID n.°:73 o una de sus partes. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador se codifica por una secuencia de nucleótido presentada en el SEQ ID n.°:74 o una de sus partes. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador se codifica por una secuencia de nucleótido presentada en el SEQ ID n.°:283 o una de sus partes. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador se codifica por una secuencia de nucleótido presentada en el SEQ ID n.°:284 o una de sus partes. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el espaciador se codifica por una secuencia de nucleótido presentada en el SEQ ID n.°:305 o una de sus partes.

[00047] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, en la expresión del polinucleótido en una célula, el ARN transcripto, ARN mensajero (ARNm) opcional, del polinucleótido, exhibe al menos la homogeneidad del ARN del 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %.

[00048] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, en la expresión en una célula, el ARN transcripto, ARN mensajero (ARNm) opcional del polinucleótido

exhibe la heterogeneidad reducida en comparación con la heterogeneidad del ARNm transcrito de un polinucleótido de referencia, dicho polinucleótido de referencia que codifica la misma secuencia de aminoácido que el polinucleótido, en donde el polinucleótido de referencia difiere por la presencia de un sitio donante de empalme o más y/o un sitio aceptor de empalme o más en el ácido nucleico que codifica el espaciador y/o contiene una modificación nucleótida o más en comparación con el polinucleótido y/o contiene el espaciador presentado en el SEQ ID n.°:73. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la heterogeneidad del ARN se reduce por más de o por más de aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el ARN transcrito, el ARN mensajero (ARNm) opcional, del polinucleótido de referencia exhibe más de o más de aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más de la heterogeneidad del ARN. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la homogeneidad y/o heterogeneidad del ARN se determina por electroforesis en gel de agarosa, electroforesis capilar basado en chip, ultracentrifugado analítico, fraccionamiento de flujo de campo o cromatografía líquida

[00049] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el polinucleótido está optimizado por codón para la expresión en una célula humana.

[00050] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el receptor quimérico es un primer receptor quimérico y el polinucleótido contiene, además, una secuencia de nucleótidos que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico. Por lo tanto, aquí también se proporcionan polinucleótidos que codifican un primer receptor quimérico que está dirigido contra GPRC5D, incluido cualquiera como se proporciona aquí, y un segundo receptor quimérico. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, los receptores quiméricos primero y segundo se separan por un elemento multicistrónico o más. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, un elemento multicistrónico o más es o contiene una secuencia de omisión de ribosoma. En algunas modalidades, la secuencia de omisión de ribosoma es un elemento T2A, un P2A, un E2A o un F2A. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, un elemento multicistrónico o más contiene la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°:37. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, un elemento multicistrónico o más se codifica por una secuencia nucleótida seleccionada entre SEQ ID n.°: 44, 45, y 319. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia

nucleótida que codifica un elemento multicistrónico o más se aparta por codón. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia nucleótida que codifica T2A se aparta por codón. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia nucleótida que codifica el T2A es o comprende la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:319.

[00051] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo receptor quimérico contiene un dominio de unión del antígeno extracelular que se une específicamente a un segundo antígeno, tal como otro aparte de GPRC5D, expresado es un mieloma múltiple o asociado con este. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR contiene un dominio de unión al antígeno extracelular que se une al segundo antígeno, un espaciador, un dominio transmembrana, y una región de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo antígeno se selecciona del antígeno de maduración del linfocito B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI o FcRH5. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo antígeno es BCMA.

[00052] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular

contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en cualquier SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 190, 192, 194, 196 o 198; (2) un espaciador; (3) una transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en cualquier SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 190, 192, 194, 196 o 198.

[00053] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H)

que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en el SEQ ID n.°: 197; y (ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en cualquiera de las SEQ ID n.°: 198; (2) un espaciador; (3) un dominio transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en el SEQ ID n.°: 197; y (ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en cualquiera de los SEQ ID n.°: 198; (2) un espaciador establecido en SEQ ID n.°: 17; (3) un

dominio transmembrana derivado de un CD28 humano; y (4) una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización citoplásmica de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) humana y un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en cualquier SEQ ID n.°: 197; y la región V_L contiene una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en cualquiera de las SEQ ID n.°: 198. En algunas de las modalidades previstas, el segundo CAR es o comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID n.°: 251. En algunas de las modalidades previstas, el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID n.°: 246.

[00054] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR contiene:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 1 (CDR-H1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID

n.°: 199, 202, 206, 209, 212 o 215; (b) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 2 (CDR-H2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 200, 203, 207, 210, 213 o 216; y (c) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 3 (CDR-H3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 201, 204, 205, 208, 211, 214 o 217; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 1 (CDR-L1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 218, 221, 224, 227, 230, 233 o 235; (b) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 2 (CDR-L2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 219, 222, 225, 228, 231, 234 o 236; y (c) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 3 (CDR-L3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 220, 223, 226, 229 o 232; (2) un espaciador; (3) un dominio transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular.

[00055] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:199, 200 y 201, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que

contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:218, 219 y 220, respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:202, 203, 204, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:221, 222 y 223, respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:199, 200, 205, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:224, 225, y 226, respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:206, 207, 208, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:227, 228 y 229, respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:230, 231 y 232, respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:212, 213 y 214,

respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:233, 234 y 229, respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:235, 236 y 232, respectivamente.

[00056] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR codificado contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:230, 231 y 232, respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:235, 236 y 232, respectivamente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR codificado contiene una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°:209, 210 y 211,

respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°:230, 231 y 232, respectivamente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR contiene una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°:215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°:235, 236 y 232, respectivamente.

[00057] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR codificado contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:189 y SEQ ID n.°:190, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:189 y SEQ ID n.°:190; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:191 y SEQ ID n.°:192, respectivamente, o a secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:191 y SEQ ID n.°:192; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:193 y SEQ ID n.°:194, respectivamente, o una secuencia de

aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:193 y SEQ ID n.°:194; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:195 y SEQ ID n.°:196, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % al SEQ ID n.°:195 y SEQ ID n.°:196; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:197 y SEQ ID n.°:198, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % al SEQ ID n.°:197 y SEQ ID n.°:198.

[00058] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR codificado contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:189 y SEQ ID n.°:190, respectivamente; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:191 y SEQ ID n.°:192; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:193 y SEQ ID n.°:194; la región V_H y V_L del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:195 y SEQ ID n.°:196; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR

contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:197 y SEQ ID n.°:198, respectivamente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR codificado contienen las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID N°:197 y SEQ ID N°:198, respectivamente.

[00059] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular del segundo CAR codificado es un solo fragmento del anticuerpo en cadena. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el fragmento codificado es o contiene un solo fragmento variable en cadena (scFv). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR codificado se unen mediante un conector flexible. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el scFv del segundo CAR codificado contiene un conector que contiene la secuencia de aminoácido GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.°:52). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el scFv del segundo CAR codificado contiene un enlazador que contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID m.°:320).En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H es amino-terminal a la región V_L en el segundo CAR codificado. En algunas de las modalidades

cualesquiera proporcionadas, la región V_H es carboxi-terminal a la región V_L en el segundo CAR codificado.

[00060] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR codificado contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 u 241 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 o 241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR codificado contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 o 241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR codificado contiene la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID n.°: 241 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido presentada en el SEQ ID n.°: 241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR codificado contiene la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID n.°: 241.

[00061] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:230, 231 y 232, respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácido del SEQ ID n.°:235, 236 y 232, respectivamente; y/o la región V_H y la región V_L del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:197 y SEQ ID n.°:198, respectivamente; y/o el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácido presentada en SEQ ID n.°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:241. En algunas de las modalidades proporcionadas, la región V_H del segundo CAR contiene una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°:209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°:230, 231 y 232, respectivamente;

y/o la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N.°:197 y SEQ ID n.°:198, respectivamente; y/o el dominio de unión a antígeno del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:241. En algunas de las modalidades proporcionadas, la región V_H del segundo CAR contiene una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°:215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°:235, 236 y 232, respectivamente; y/o la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N.°:197 y SEQ ID n.°:198, respectivamente; y/o el dominio de unión a antígeno del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:241.

[00062] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana del segundo CAR codificado es o contiene un dominio transmembrana derivado de

CD4, CD28 o CD8, opcionalmente de un CD4 humano, un CD8 humano o un CD28 humano.

[00063] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana del segundo CAR codificado es o contiene un dominio transmembrana derivado de CD28 humano o es o contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 18 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 18. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana del segundo CAR codificado es o contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 18.

[00064] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR codificado contiene un dominio de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular del segundo CAR codificado es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) o contiene un motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular del segundo CAR codificado contiene un dominio de señalización citoplasmática de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una

variante funcional o porción de señalización de esta, opcionalmente una cadena CD3 zeta humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR codificado contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 20.

[00065] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR codificado contiene, además, una región de señalización coestimulante. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR codificado contiene un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulatoria de linfocito T o una porción de señalización de esta. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR codificado contiene un dominio de señalización intracelular de un CD28, un 4-1BB o un ICOS o una porción de señalización de estos, opcionalmente un CD28 humano, un 4-1BB humano o un ICOS humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR codificado contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB o una porción de señalización de

este. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer receptor de antígeno quimérico o el segundo receptor de antígeno quimérico, por lo menos uno de ellos, contienen una región de señalización intracelular que, a su vez, contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB o una porción de señalización de este, opcionalmente de un 4-1BB humano.

[00066] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR codificado contiene: un dominio de señalización intracelular de un CD28 humano o la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 46 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 46.

[00067] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR codificado contiene: un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB humano o la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 19 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 19.

[00068] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo receptor de antígeno quimérico codificado contiene, a partir de su terminal N o C y en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el

dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

[00069] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia de polinucleótidos que codifica el primer receptor de antígeno quimérico o la secuencia de polinucleótidos que codifica al segundo receptor de antígeno quimérico, al menos una de ellas, tiene un codón divergente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia de polinucleótidos que codifica el primer receptor de antígeno quimérico y la secuencia de polinucleótidos que codifica al segundo receptor de antígeno quimérico tienen no más de aproximadamente 30, no más de aproximadamente 20 o no más de aproximadamente 10 pares de bases consecutivos de homología de secuencia.

[00070] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia de nucleótidos que codifican el CAR está enlazada operativamente a un promotor para controlar la expresión del CAR codificado cuando se expresa a partir de una célula introducida con el polinucleótido, opcionalmente en donde el promotor es un promotor heterólogo, opcionalmente en donde el promotor heterólogo es o contiene un factor de elongación 1 alfa (EF1α) humano o un promotor MND o una variante de estos.

[00071] algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, en donde el polinucleótido codifica dos CAR,

la secuencia de nucleótidos que codifican el primer CAR está enlazada operativamente a un primer promotor para controlar la expresión del primer CAR cuando se expresa a partir de una célula introducida con el polinucleótido y la secuencia de nucleótidos que codifican el segundo CAR está enlazada operativamente a un segundo promotor para controlar la expresión del segundo CAR cuando se expresa a partir de una célula introducida con el polinucleótido. En algunas modalidades, el primer y el segundo promotor son, en forma independiente, un promotor de heterólogo, en donde el promotor heterólogo es o contiene un factor de elongación 1 alfa (EF1α) humano o un promotor MND o una variante de estos. En algunas de tales modalidades, el primer y el segundo promotor son iguales. En algunas de tales modalidades, el primer y el segundo promotor son diferentes.

[00072] También se suministran vectores que contienen algunos de los polinucleótidos proporcionados. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el vector es un vector vírico. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el vector vírico es un vector lentivírico o un vector retrovírico.

[00073] También se suministran células diseñadas que contienen algunos de los receptores de antígeno quimérico proporcionados en la presente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, las células diseñadas contienen

un receptor de antígeno quimérico proporcionado en la presente y, además, un polinucleótido que contiene una secuencia de nucleótidos que codifican un segundo receptor de antígeno quimérico.

[00074] También se suministran células diseñadas que contienen algunos de los polinucleótidos proporcionados en la presente.

[00075] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo receptor quimérico de la célula proporcionada contiene un dominio de unión a antígeno extracelular que une específicamente un segundo antígeno expresado en o asociado con mieloma múltiple. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR contiene el dominio de unión a antígeno extracelular que une el segundo antígeno, un espaciador, un dominio transmembrana y una región de señalización intracelular. En algunas de tales modalidades cualesquiera, el segundo antígeno se selecciona ente el antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI o FcRH5. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo antígeno es BCMA.

[00076] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el segundo CAR contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a

antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en cualquier SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 190, 192, 194, 196 o 198; (2) un espaciador; (3) una transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular. En algunas de tales modalidades la región V_H contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 en la secuencia de aminoácidos de la región V_H región expuesta en cualquiera de los SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 190, 192, 194, 196 o 198.

[00077] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el segundo CAR contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una complementariedad de la

cadena pesada que determina la región 1 (CDR-H1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 199, 202, 206, 209, 212 o 215; (b) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 2 (CDR-H2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 200, 203, 207, 210, 213 o 216; y (c) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 3 (CDR-H3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 201, 204, 205, 208, 211, 214 o 217; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 1 (CDR-L1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 218, 221, 224, 227, 230, 233 o 235; (b) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 2 (CDR-L2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 219, 222, 225, 228, 231, 234 o 236; y (c) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 3 (CDR-L3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 220, 223, 226, 229 o 232; (2) un espaciador; (3) un dominio transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular.

[00078] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que

contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 199, 200 y 201 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 218, 219 y 220 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 202, 203 y 204 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 221, 222 y 223 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 199, 200 y 205 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 224, 225 y 226 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 206, 207 y 208 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 227, 228 y 229 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232

respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 212, 213 y 214 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 233, 234 y 229 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente.

[00079] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente.

[00080] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región V_H y la y el N.° DE región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 189 y el SEQ ID n.°: 190, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 189 IDENT. DE SEC.: 190; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196; o la región V_H y la

región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198.

[00081] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 189 y el SEQ ID n.°: 190, respectivamente; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198 respectivamente.

[00082] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el dominio de unión a antígeno extracelular del segundo CAR es un fragmento de anticuerpo de cadena simple. En algunas de tales modalidades

cualesquiera, el fragmento es o contiene un fragmento variable de cadena simple (scFv).

[00083] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región V_H y la región V_L están unidas por un conector flexible. En algunas de tales modalidades, el conector contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.°: 52). En algunas de dichas modalidades cualesquiera, el ligador contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.°:320).

[00084] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región V_H es aminoterminal respecto de la región V_L en el segundo CAR. En algunas de las modalidades proporcionadas de células de ingeniería, la región V_H es carboxi-terminal a la región V_L en la segunda CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de uno de los SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 u 241 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 o 241.

[00085] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de uno de los SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 o 241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen las secuencias de aminoácidos expuestas en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198 respectivamente, o el dominio de unión a antígeno contiene la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:241.

[00086] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de células de ingeniería, el dominio de unión a antígeno de la segunda CAR contiene el aminoácido establecido en SEQ ID n.°: 241. En algunas de las modalidades proporcionadas de células de ingeniería, la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°:209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR que contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 230, 231 y 232, respectivamente; y/o la región V_H y la región V_L del segundo CAR que contiene las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°:197 y SEQ ID n.°:198, respectivamente; y/o el dominio de unión a antígeno del segundo CAR que contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:241.

[00087] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el dominio transmembrana del segundo CAR es o contiene un dominio transmembrana derivado de CD4, CD28 o CD8, opcionalmente de un CD4 humano, un CD8 humano o un CD28 humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el dominio transmembrana del segundo CAR es o

contiene un dominio transmembrana derivado de CD28 humano; o el dominio transmembrana es o contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 18 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 18. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el dominio transmembrana del segundo CAR es o contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 18.

[00088] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR contiene un dominio de señalización intracelular.

[00089] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el dominio de señalización intracelular del segundo CAR es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) o contiene un motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el dominio de señalización intracelular del segundo CAR contiene un dominio de señalización citoplasmática de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de esta, opcionalmente una cadena CD3 zeta

humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 20.

[00090] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR contiene, además, una región de señalización coestimulante. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR contiene un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulatoria de linfocito T o una porción de señalización de esta. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR contiene un dominio de señalización intracelular de un CD28, un 4-1BB o un ICOS o una porción de señalización de estos, opcionalmente un CD28 humano, un 4-1BB humano o un ICOS humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR contiene un dominio de señalización intracelular de 4-1BB o una porción

de señalización de este. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer receptor de antígeno quimérico o el segundo receptor de antígeno quimérico, por lo menos uno de ellos, contienen una región de señalización intracelular que, a su vez, contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB o una porción de señalización de este, opcionalmente de un 4-1BB humano.

[00091] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR contiene: un dominio de señalización intracelular de un CD28 humano o la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 46 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 46.

[00092] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR contiene: un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB humano o la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 19 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 19.

[00093] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de las células diseñadas, el segundo receptor

de antígeno quimérico codificado contiene, a partir de su terminal N o C y en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

[00094] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada es un linfocito. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada es un linfocito NK o un linfocito T. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada es un linfocito T y el linfocito T es un linfocito T CD4+ o CD8+.

[00095] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada se diseñó a partir de una célula primaria obtenida de un sujeto.

[00096] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada se encuentra entre una pluralidad de células diseñadas en donde menos de o menos de aproximadamente un 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1% de las células de la pluralidad contienen un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica o actividad o señalización independiente del antígeno.

[00097] También se suministran composiciones que contienen algunos de los receptores quiméricos proporcionados en la presente. También se suministran composiciones que contienen algunas de las células diseñadas proporcionadas en la

presente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición contiene linfocitos T CD4+ y CD8+ y la relación de linfocitos T CD4+/CD8+ varía de o aproximadamente de 1:3 a 3:1, opcionalmente 1:2 a 2:1 En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición contiene células T CD4+ y CD8+ y la relación de linfocitos T CD4+ y CD8+ es de aproximadamente 1:1.

[00098] También se suministran composiciones que contienen: una pluralidad de primeras células diseñadas que contienen un primer receptor de antígeno quimérico que es cualquiera de los receptores de antígeno quimérico proporcionados en la presente o codificados por cualquiera de los polinucleótidos proporcionados en la presente, y una pluralidad de segundas células diseñadas que contienen un segundo receptor de antígeno quimérico. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, entre una pluralidad de primeras células diseñadas, menos de o menos de aproximadamente un 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1% de las células de la pluralidad contienen un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica o actividad o señalización independiente del antígeno. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, entre una pluralidad de segundas células diseñadas, menos de o menos de aproximadamente un 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1% de las células de la pluralidad contienen un receptor de antígeno quimérico que

exhibe señalización tónica o actividad o señalización independiente del antígeno.

[00099] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo receptor quimérico en la pluralidad de las segundas células diseñadas en la composición contiene un dominio de unión a antígeno extracelular que une específicamente un segundo antígeno expresado en o asociado con mieloma múltiple. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR en la pluralidad de las segundas células diseñadas en la composición contiene el dominio de unión a antígeno extracelular que une el segundo antígeno, un espaciador, un dominio transmembrana y una región de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo antígeno en la pluralidad de las segundas células diseñadas en la composición se selecciona ente el antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI o FcRH5. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo antígeno en la pluralidad de las segundas células diseñadas en la composición es BCMA.

[000100] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR en la pluralidad de las segundas células diseñadas en la composición contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une

específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en cualquier SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 190, 192, 194, 196 o 198; (2) un espaciador; (3) una transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular. En algunas de tales modalidades la región V_H contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 en la secuencia de aminoácidos de la región V_H región expuesta en cualquiera de los SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 190, 192, 194, 196 o 198.

[000101] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR en la pluralidad de las segundas células diseñadas en la composición contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a

antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 1 (CDR-H1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 199, 202, 206, 209, 212 o 215; (b) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 2 (CDR-H2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 200, 203, 207, 210, 213 o 216; y (c) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 3 (CDR-H3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 201, 204, 205, 208, 211, 214 o 217; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 1 (CDR-L1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 218, 221, 224, 227, 230, 233 o 235; (b) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 2 (CDR-L2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 219, 222, 225, 228, 231, 234 o 236; y (c) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 3 (CDR-L3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 220, 223, 226, 229 o 232; (2) un espaciador; (3) un dominio transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular.

[000102] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR de la composición contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 199, 200 y 201 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 218, 219 y 220 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 202, 203 y 204 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 221, 222 y 223 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 199, 200 y 205 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 224, 225 y 226 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 206, 207 y 208 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 227, 228 y 229 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°:

209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 212, 213 y 214 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 233, 234 y 229 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente.

[000103] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR de la composición contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que

contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente.

[000104] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 189 y el SEQ ID n.°: 190, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 189 y el SEQ ID n.°: 190; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198.

[000105] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 189 y el SEQ ID n.°: 190 respectivamente; la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192; la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194; la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198 respectivamente.

[000106] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular

del segundo CAR de la composición es un fragmento de anticuerpo de cadena simple. En algunas de tales modalidades, el fragmento es o contiene un fragmento variable de cadena simple (scFv). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L en el segundo CAR de la composición están unidas por un conector flexible. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el conector contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.°: 52). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el ligador en el segundo CAR de la composición contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID N.°:320).

[000107] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H es aminoterminal respecto de la región V_L en el segundo CAR de la composición. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H es carboxiterminal respecto de la región V_L en el segundo CAR de la composición. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR de la composición contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de uno de los SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 u 241 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 o

241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR de la composición contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de uno de los SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 o 241.

[000108] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR de la composición contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen las secuencias de aminoácidos expuestas en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198 respectivamente, o el dominio de unión a antígeno de la composición contiene la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el

SEQ ID n.°:241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR en la composición que contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N°:209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR que contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N°: 230, 231 y 232, respectivamente; y/o la región V_H y la región V_L del segundo CAR en la composición que contiene las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N.°:197 y SEQ ID N°: 198, respectivamente; y/o el dominio de unión a antígeno del segundo CAR en la composición contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:241.

[000109] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana del segundo CAR de la composición es o contiene un dominio transmembrana derivado de CD4, CD28 o CD8, opcionalmente de un CD4 humano, un CD8 humano o un CD28 humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas,

el dominio transmembrana del segundo CAR de la composición es o contiene un dominio transmembrana derivado de CD28 humano; o el dominio transmembrana del segundo CAR de

la composición es o contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 18 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 18. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana del segundo CAR de la composición es o contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 18

[000110] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular del segundo CAR de la composición es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) o contiene un motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización citoplasmática de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de esta, opcionalmente una cadena CD3 zeta humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR de la composición contiene la secuencia expuesta

en el SEQ ID n.°: 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 20.

[000111] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR de la composición contiene, además, una región de señalización coestimulante. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulatoria de linfocito T o una porción de señalización de esta. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización intracelular de un CD28, un 4-1BB o un ICOS o una porción de señalización de estos, opcionalmente un CD28 humano, un 4-1BB humano o un ICOS humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB o una porción de señalización de este, opcionalmente un 4-1BB humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer receptor de antígeno quimérico o el segundo receptor de antígeno quimérico, por lo menos uno de

ellos, contienen una región de señalización intracelular que, a su vez, contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB o una porción de señalización de este, opcionalmente de un 4-1BB humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene: un dominio de señalización intracelular de un CD28 humano o la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 46 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 46. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene: un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB humano o la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 19 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 19.

[000112] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo receptor de antígeno quimérico codificado de la composición contiene, a partir de su terminal N o C y en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

[000113] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la pluralidad de las primeras células diseñadas de la composición contiene linfocitos T, opcionalmente en donde los linfocitos T incluyen linfocitos T CD4+ y CD8+, opcionalmente en donde la relación de linfocitos T CD4+/CD8+ es de o aproximadamente de 1:3 a 3:1, opcionalmente 1:2 a 2:1. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la pluralidad de primeras células de ingeniería en la composición contiene linfocitos T, opcionalmente en donde los linfocitos T incluyen linfocitos T CD4+ y CD8+, opcionalmente en donde la relación de linfocitos T CD4+ a CD8+ es de aproximadamente 1:1.

[000114] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la pluralidad de las segundas células diseñadas de la composición contiene linfocitos T, opcionalmente en donde los linfocitos T incluyen linfocitos T CD4+ y CD8+, opcionalmente en donde la relación de linfocitos T CD4+/CD8+ es de o aproximadamente de 1:3 a 3:1, opcionalmente 1:2 a 2:1. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la pluralidad de segundas células manipuladas en la composición contiene células T, opcionalmente donde las linfocitos T incluyen linfocitos T CD4+ y CD8+, opcionalmente en donde la proporción de linfocitos T CD4+ a linfocitos T CD8+ es de aproximadamente 1:1.

[000115] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición contiene una relación entre la primera pluralidad de células diseñadas y la segunda pluralidad de células diseñadas que es de o aproximadamente de 1:3 a 3:1, opcionalmente 1:2 a 2:1, opcionalmente es o es aproximadamente 1:1. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición contiene la primera pluralidad de células que expresan el primer receptor de antígeno quimérico y el segundo receptor de antígeno quimérico en una relación que es de aproximadamente 1:3 a 3:1, de manera opcional aproximadamente 1:2 a 2:1 En modalidades particulares, la relación entre la primera pluralidad de células diseñadas y la segunda pluralidad de células diseñadas en la composición es o es aproximadamente 1:1. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición contiene, además, un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición es estéril.

[000116] También se suministran en la presente usos de cualquiera de las composiciones proporcionadas en este documento. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición es para uso en el tratamiento de un sujeto con una enfermedad o una afección. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la enfermedad o

la afección es un cáncer. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la enfermedad o la afección son un mieloma múltiple, opcionalmente un mieloma múltiple recidivante o resistente. Los usos y composiciones suministrados para el uso proporcionado en la presente pueden ser para el tratamiento de un sujeto de acuerdo con los aspectos de cualquiera de los métodos indicados.

[000117] También se suministran en la presente métodos de tratamiento que incluyen la administración de cualquiera de las composiciones proporcionadas en este documento que contienen cualquiera de las células diseñadas proporcionadas en este documento o cualquiera de las composiciones proporcionadas en este documento que contienen cualquiera de los receptores de antígeno quimérico proporcionados en este documento a un sujeto que tiene una enfermedad o un trastorno. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la dosis de células contiene aproximadamente entre 1.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.25 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0 x 10^8

linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la dosis de células contiene aproximadamente entre 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR.

[000118] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la dosis de células contiene aproximadamente entre 1 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y aproximadamente entre 2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 2.5 x 10^7, aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x 10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8, aproximadamente entre 4.5 x 10^8, aproximadamente entre 8,0 x 10^8 o aproximadamente entre 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene

aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x 10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8 o aproximadamente entre 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x 10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8 o aproximadamente entre 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR.

[000119] También se suministran en la presente composiciones que contienen una pluralidad de primeras células diseñadas que contienen un primer receptor de antígeno quimérico que es cualquiera de los receptores de antígeno quimérico proporcionados en la presente o codificados por cualquiera de los polinucleótidos proporcionados en la presente, y una segunda composición que contiene una pluralidad de segundas células diseñadas que contienen un segundo receptor de antígeno quimérico, para su uso. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, las composiciones se usan en conjunto en el tratamiento de un sujeto con una enfermedad o una afección. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la enfermedad o la afección es un cáncer. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la enfermedad o la afección son un mieloma

múltiple, opcionalmente un mieloma múltiple recidivante o resistente. Los usos y composiciones suministrados para el uso proporcionado en la presente pueden ser para el tratamiento de un sujeto de acuerdo con los aspectos de cualquiera de los métodos indicados.

[000120] También se suministran en la presente métodos de tratamiento que incluyen: la administración, a un sujeto que tiene una enfermedad o un trastorno, de una composición que contiene una pluralidad de primeras células diseñadas que, a su vez, contienen un primer receptor de antígeno quimérico que es cualquier receptor de antígeno quimérico de los proporcionados en la presente o que está codificado por cualquier de los polinucleótidos proporcionados en la presente, y la administración al sujeto de una composición que contiene una pluralidad de segundas células diseñadas que, a su vez, contienen un segundo receptor de antígeno quimérico. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la dosis de la pluralidad de primeras células diseñadas y la dosis de la pluralidad de segundas células diseñadas contienen, en forma independiente, aproximadamente entre 1.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.5 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.25 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 0.6 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 2.25 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR,

aproximadamente entre 7.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de la pluralidad de primeras células diseñadas y la dosis de la pluralidad de segundas células diseñadas contienen aproximadamente entre 1 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y aproximadamente entre 2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x 10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8 o aproximadamente entre 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x

10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8 o aproximadamente entre 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x 10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8 o aproximadamente entre 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x 10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8 o aproximadamente entre 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR.

[000121] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición que contiene la pluralidad de las primeras células diseñadas y la composición que contiene la pluralidad de las segundas células diseñadas se administran simultáneamente, en secuencia o de manera intermitente En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición que contiene la pluralidad de las primeras células diseñadas y la composición que contiene la pluralidad de las segundas células diseñadas se administran en cualquier orden secuencial.

[000122] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, entre una pluralidad de primeras células

diseñadas de composiciones en los métodos proporcionados de tratamiento o para usos en tratamiento, menos de o menos de aproximadamente un 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1% de las células de la pluralidad contienen un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica o actividad o señalización independiente del antígeno.

[000123] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, entre una pluralidad de segundas células diseñadas de composiciones en los métodos proporcionados de tratamiento o para usos en tratamiento, menos de o menos de aproximadamente un 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1% de las células de la pluralidad contienen un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica o actividad o señalización independiente del antígeno.

[000124] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo receptor quimérico en las células diseñadas de las composiciones en los métodos de tratamiento o para usos en tratamiento contiene un dominio de unión a antígeno extracelular que une específicamente un segundo antígeno expresado en o asociado con mieloma múltiple.

[000125] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR en células diseñadas de composiciones en los métodos proporcionados o para usos en tratamiento contiene el dominio de unión a antígeno extracelular que une el segundo antígeno, un espaciador, un

dominio transmembrana y una región de señalización intracelular.

[000126] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo antígeno seleccionado como objetivo por el segundo CAR en células diseñadas de composiciones en los métodos proporcionados o para usos en tratamiento se selecciona ente el antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI o FcRH5. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo antígeno en los métodos proporcionados es BCMA.

[000127] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR en células diseñadas de composiciones en los métodos proporcionados o para usos en tratamiento contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en cualquier SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la

región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 190, 192, 194, 196 o 198; (2) un espaciador; (3) una transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR en los métodos proporcionados contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 en la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en cualquiera de los SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en cualquier SEQ ID n.°: 190, 192, 194, 196 o 198.

[000128] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR en células diseñadas de composiciones en los métodos proporcionados o para usos en tratamiento contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido de la región V_H presentada en el SEQ ID n.°: 197; y (ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que contiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia con la

secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en SEQ ID n.°: 198; (2) un espaciador; (3) una transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR en los métodos proporcionados contiene una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenida en la secuencia de aminoácidos de la región V_H establecida en la SEQ ID n.°: 197; y la región V_L contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenido dentro de la secuencia de aminoácido de la región V_L presentada en el SEQ ID n.°: 198.

[000129] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR en células diseñadas de composiciones en los métodos proporcionados o para usos en tratamiento contiene: (1) un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a BCMA, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular contiene lo siguiente: (i) una cadena pesada variable (V_H) que contiene una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 1 (CDR-H1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 199, 202, 206, 209, 212 o 215; (b) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 2 (CDR-H2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 200, 203, 207, 210, 213 o 216; y (c) una complementariedad de la cadena pesada que determina la región 3 (CDR-H3) que contiene la

secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 201, 204, 205, 208, 211, 214 o 217; y (ii) una región de la cadena ligera variable (V_L) que contiene una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 1 (CDR-L1) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 218, 221, 224, 227, 230, 233 o 235; (b) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 2 (CDR-L2) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 219, 222, 225, 228, 231, 234 o 236; y (c) una complementariedad de la cadena ligera que determina la región 3 (CDR-L3) que contiene la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 220, 223, 226, 229 o 232; (2) un espaciador; (3) un dominio transmembrana; y (4) una región de señalización intracelular.

[000130] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR de la composición contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 199, 200 y 201 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 218, 219 y 220 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 202, 203 y 204 respectivamente, y la región V_L del segundo

CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 221, 222 y 223 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 199, 200 y 205 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 224, 225 y 226 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 206, 207 y 208 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 227, 228 y 229 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232 respectivamente; la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 212, 213 y 214 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 233, 234 y 229 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen

la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente.

[000131] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR de la composición contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente En algunas de las modalidades proporcionadas, el segundo CAR en las células de ingeniería de las composiciones en los métodos proporcionados o para usos en el tratamiento contiene un dominio de unión a antígeno extracelular en el que la región V_H del segundo CAR contiene una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOS: 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene una

CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N°:230, 231 y 232, respectivamente.

[000132] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 189 y el SEQ ID n.°: 190, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 189 y el SEQ ID n.°: 190; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194; la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198.

[000133] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo CAR en las células de ingeniería de las composiciones en los métodos proporcionados o para usos en el tratamiento contiene un dominio de unión a antígeno extracelular en el que la región V_H y la región V_L contienen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N.°:197 y SEQ ID N.°:198, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con SEQ ID N.°:197 y SEQ ID N.°:198.

[000134] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 189 y el SEQ ID n.°: 190 respectivamente; la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 191 y el SEQ ID n.°: 192; la región V_H y la región V_L del

segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 193 y el SEQ ID n.°: 194; la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 195 y el SEQ ID n.°: 196; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen la secuencia de aminoácidos expuesta en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198 respectivamente. En algunas de las modalidades proporcionadas, el segundo CAR en las células de ingeniería de las composiciones en los métodos proporcionados o para usos en el tratamiento contiene un dominio de unión a antígeno extracelular en el que la región V_H y la región V_L contienen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N°:197 y SEQ ID N°:198, respectivamente.

[000135] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno extracelular del segundo CAR de la composición es un fragmento de anticuerpo de cadena simple. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el fragmento es o contiene un solo fragmento variable en cadena (scFv).

[000136] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H y la región V_L en el segundo CAR de la composición están unidas por un conector flexible. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el conector contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS

(SEQ ID n.°: 52). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el ligador en el segundo CAR de la composición contiene la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.°320).

[000137] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H es aminoterminal respecto de la región V_L en el segundo CAR de la composición. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H es carboxiterminal respecto de la región V_L en el segundo CAR de la composición.

[000138] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR de la composición contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de uno de los SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 u 241 o una secuencia de aminoácido que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácido seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 o 241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR de la composición contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de uno de los SEQ ID n.°: 227, 238, 239, 240 o 241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados o para usos en el tratamiento, el dominio de unión a antígeno extracelular

del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N°: 241 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID N°:241. En algunas de las modalidades cualesquiera de los métodos proporcionados, el dominio de unión a antígeno del segundo CAR contiene la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID N°: 241.

[000139] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR de la composición contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 209, 210 y 211 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 230, 231 y 232 respectivamente; o la región V_H del segundo CAR contiene un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 215, 216 y 217 respectivamente, y la región V_L del segundo CAR contiene un CDR-L1, un CDR-L2 y un CDR-L3 que contienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID n.°: 235, 236 y 232, respectivamente; o la región V_H y la región V_L del segundo CAR de la composición contienen las secuencias de aminoácidos expuestas en el SEQ ID n.°: 197 y el SEQ ID n.°: 198 respectivamente, o el dominio de unión a antígeno de la composición contiene la secuencia de aminoácidos expuesta en

el SEQ ID n.°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:241. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región V_H del segundo CAR en la composición que contiene un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N°:209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR que contiene un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que contiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N°: 230, 231 y 232, respectivamente; y/o la región V_H y la región V_L del segundo CAR en la composición que contiene las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N.°:197 y SEQ ID N°: 198, respectivamente; y/o el dominio de unión a antígeno del segundo CAR en la composición contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N°: 241 o una secuencia que tiene al menos una identidad de secuencia del 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:241.

[000140] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana del segundo CAR de la composición es o contiene un dominio transmembrana derivado de CD4, CD28 o CD8, opcionalmente de un CD4 humano, un CD8 humano o un CD28 humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana del

segundo CAR de la composición es o contiene un dominio transmembrana derivado de CD28 humano; o el dominio transmembrana del segundo CAR de la composición es o contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 18 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 18. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio transmembrana del segundo CAR de la composición es o contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 18.

[000141] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización intracelular. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular del segundo CAR de la composición es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) o contiene un motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización citoplasmática de una cadena zeta de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de esta, opcionalmente una cadena CD3 zeta

humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR de la composición contiene la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 20.

[000142] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización intracelular del segundo CAR de la composición contiene, además, una región de señalización coestimulante. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulatoria de linfocito T o una porción de señalización de esta. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización intracelular de un CD28, un 4-1BB o un ICOS o una porción de señalización de estos, opcionalmente un CD28 humano, un 4-1BB humano o un ICOS humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB o una porción de señalización de este, opcionalmente un 4-1BB

humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer receptor de antígeno quimérico o el segundo receptor de antígeno quimérico, por lo menos uno de ellos, contienen una región de señalización intracelular que, a su vez, contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB o una porción de señalización de este, opcionalmente de un 4-1BB humano.

[000143] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados o para usos en el tratamiento, la región de señalización coestimulante del segundo CAR contiene: un dominio de señalización intracelular de un CD28 humano; y/o la secuencia establecida en SEQ ID n.° 46 o una secuencia de aminoácidos que exhiba al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 46.

[000144] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante del segundo CAR de la composición contiene: un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB humano o la secuencia expuesta en el SEQ ID n.°: 19 o una secuencia de aminoácidos que exhibe, por lo menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID n.°: 19.

[000145] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo receptor de antígeno quimérico

codificado de la composición contiene, a partir de su terminal N o C y en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

[000146] Entre los polinucleótidos proporcionados en el presente documento hay polinucleótidos que contienen (i) una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un primer receptor de antígeno quimérico (CAR) que contiene un primer dominio de unión a antígeno; y (ii) una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico (CAR) que contiene un segundo dominio de unión a antígeno; en el que el primer CAR y el segundo CAR contienen cada uno lo siguiente: (a) el primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno, (b) un espaciador, (c) un dominio transmembrana, y (d) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización intracelular y una región de señalización costimuladora; en la que una o más de las letras (b) a (d) de la primera CAR y la misma una o más de las letras (b) a (d) de la segunda CAR contienen la misma secuencia de aminoácidos; y en la que la(s) secuencia(s) de nucleótidos que codifica(n) una o más de las letras (b) a (d) de la primera CAR difieren de las secuencias de nucleótidos que codifican la misma una o más de las letras (b) a (d) de la segunda CAR.

[000147] También se proporcionan aquí polinucleótidos que contienen (i) una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un primer receptor de antígeno quimérico (CAR) que contiene un primer dominio de unión de antígenos capaz de unirse a uno de los GPRC5D o BCMA y (ii) una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica un segundo receptor de antígenos quiméricos (CAR) que contiene un segundo dominio de unión de antígenos capaz de unirse al otro de los GPRC5D o BCMA; en el que el primer CAR y el segundo CAR contienen cada uno de los dos lo siguiente: (a) el primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno, (b) un espaciador, (c) un dominio transmembrana, y (d) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización intracelular y una región de señalización costimuladora; en la que una o más de las letras (b) a (d) de la primera CAR y la misma una o más de las letras (b) a (d) de la segunda CAR contienen la misma secuencia de aminoácidos; y en la que la(s) secuencia(s) de nucleótidos que codifica(n) una o más de las letras (b) a (d) de la primera CAR difieren de las secuencias de nucleótidos que codifican la misma una o más de las letras (b) a (d) de la segundo CAR.

[000148] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer y segundo dominio de unión de antígenos se unen al mismo antígeno. En algunas de las

modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer y segundo dominio de unión de antígenos se unen a diferentes epítopos del mismo antígeno. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer y segundo dominio de unión de antígenos se unen a diferentes antígenos. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer dominio de unión de antígenos se une a un primer antígeno expresado o asociado con células de una enfermedad o afección y el segundo dominio de unión de antígenos se une a un segundo antígeno expresado o asociado con células de la misma enfermedad o afección.

[000149] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la enfermedad o la afección es un cáncer. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la enfermedad o afección es un cáncer que expresa GPRC5D. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la enfermedad o afección es un cáncer que expresa BCMA. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la enfermedad o afección es un cáncer que expresa BCMA y GPRC5D. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el cáncer es una malignidad de células plasmáticas y la malignidad de células plasmáticas es el mieloma múltiple (MM) o el plasmacitoma. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el cáncer es el mieloma múltiple. En algunas

de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el cáncer es mieloma múltiple recidivante/refractario.

[000150] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer y segundo dominio de unión de antígenos se unen independientemente a un antígeno seleccionado del grupo formado por GPRC5D, BCMA, CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI y FcRH5. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer dominio de unión de antígenos se une al antígeno de maduración de linfocito B (BCMA). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer dominio de unión de antígenos se une a un receptor acoplado a proteína G, de clase C, grupo 5, miembro D (GPRC5D). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo dominio de unión de antígenos se une a BCMA. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el segundo dominio de unión de antígenos se une a GPRC5D.

[000151] En algunas modalidades provistas, (a) es o contiene el primer dominio de unión del antígeno o el segundo dominio de unión del antígeno, (b) es o contiene un espaciador, (c) es o contiene un dominio transmembrana, y (d) es o contiene una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular y una región de señalización costimulante. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, una o más de (b) a (d) es una de

(b) a (d). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, una o más de (b) a (d) son dos de (b) a (d). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, una o más de (b) a (d) es cada una de (b) a (d).

[000152] En algunas modalidades provistas, (a) es o contiene el primer dominio de unión del antígeno o el segundo dominio de unión del antígeno, (b) es o contiene un espaciador, (c) es o contiene un dominio transmembrana, y (d) es o contiene una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular y una región de señalización costimulante. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia o secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de los puntos (a) a (d) en el primer CAR y la secuencia o secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de los puntos (a) a (d) en el segundo CAR no comprenden más de 20 pares de bases consecutivos de homologías de secuencias; y/o la primera secuencia de ácido nucleico que codifica el primer CAR y la segunda secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo CAR no contienen más de 20 pares de bases consecutivos de homología de secuencias. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia o secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de los puntos (a) a (d) en el primer CAR y la secuencia o secuencias de nucleótidos que codifican el mismo uno o más de los puntos (a) a (d) en el segundo CAR no contienen más de 5

a 15 pares de bases consecutivos de homología de secuencias; y/o la primera secuencia de ácido nucleico que codifica el primer CAR y la segunda secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo CAR no contienen más de 5 y aproximadamente 15 pares de bases consecutivos de homología de secuencias. En algunas modalidades provistas, la secuencia o secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de los puntos (a) a (d) en el primer CAR y la secuencia o secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de los puntos (a) a (d) en el segundo CAR no contienen más de 10 pares de bases consecutivos de homología; y/o la primera secuencia de ácido nucleico que codifica el primer CAR y la segunda secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo CAR no contienen más de 10 pares de bases consecutivos de homología de secuencias.

[000153] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR y el segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR están separados por una secuencia de nucleótidos que codifica un elemento multicistrónico, opcionalmente donde el elemento multicistrónico es un elemento bicistrónico. En algunas modalidades provistas, el elemento multicistrónico es un IRES o es una secuencia de salto de ribosoma o un péptido de autoescisión. En algunas modalidades provistas, el elemento multicistrónico es una secuencia de salto del ribosoma o péptido de autoescisión y la secuencia de salto

del ribosoma o péptido de autoescisión es un elemento T2A, un P2A, un E2A, o un F2A. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia nucleótida que codifica un elemento multicistrónico o más se aparta por codón. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia nucleótida que codifica T2A se aparta por codón. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la secuencia de nucleótidos que codifica el T2A es o contiene la secuencia establecida en SEQ ID n.° 319.

[000154] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica el primer CAR está optimizada para codones para su expresión en una célula humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica el segundo CAR está optimizada para codones para su expresión en una célula humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el polinucleótido está optimizado por codón para la expresión en una célula humana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, después de la transcripción del polinucleótido en una célula humana, opcionalmente un linfocito T humano, el ARNm transcrito, opcionalmente ARN mensajero, del polinucleótido, exhibe al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de homogeneidad de ARN. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, después de la

transcripción del primer ácido nucleico que codifica el primer CAR del polinucleótido en una célula humana, opcionalmente un linfocito T humano, el ARNm transcrito, opcionalmente ARN mensajero, del primer ácido nucleico exhibe al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de homogeneidad de ARN. En algunas modalidades provistas, después de la transcripción del segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR del polinucleótido en una célula humana, opcionalmente un linfocito T humano, el ARNm transcrito, opcionalmente ARN mensajero, del segundo ácido nucleico exhibe por lo menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de homogeneidad de ARN.

[000155] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, cualquier posible donante de empalme y/o sitio aceptor de empalme presente en el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR exhibe una puntuación de predicción de empalme de aproximadamente o al menos de 0.70, 0.65, 0.60, 0.55, 0.50, 0.45, 0.40, 0.35, 0.30, 0.25, 0.20 y/o se prevé que participe en un evento de empalme con una probabilidad de menos del 70%, menos del 65%, menos del 60%, menos del 55%, menos del 50%, menos del 45%, menos del 40%, menos del 35%, menos del 30%, menos del 25% o menos del 20%. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, cualquier posible donante de empalme o sitio aceptor en el segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR exhibe una

puntuación de predicción de empalme de aproximadamente o al menos de 0.70, 0.65, 0.60, 0.55, 0.50, 0.45, 0.40, 0.35, 0.30, 0.25, 0.20 y/o se prevé que participe en un evento de empalme con una probabilidad de menos del 70%, menos del 65%, menos del 60%, menos del 55%, menos del 50%, menos del 45%, menos del 40%, menos del 35%, menos del 30%, menos del 25% o menos del 20%. %. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, cualquier donante potencial de empalme o sitios aceptor en el polinucleótido exhibe una puntuación de predicción de empalme de aproximadamente o al menos de 0.70, 0.65, 0.60, 0.55, 0.50, 0.45, 0.40, 0.35, 0.30, 0.25, 0.20 y/o se prevé que participe en un evento de empalme con una probabilidad de menos del 70%, menos del 65%, menos del 60%, menos del 55%, menos del 50%, menos del 45%, menos del 40%, menos del 35%, menos del 30%, menos del 25% o menos del 20%.

[000156] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer y/o segundo dominio de unión de antígenos de (a) es un fragmento de anticuerpo de cadena única. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer y/o segundo dominio de unión de antígenos de (a) es o contiene un solo fragmento variable de cadena (scFv). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer y/o segundo dominio de unión de antígenos de (a) contiene una región de cadena pesada variable (V_H) y una región de cadena ligera variable (V_L).

[000157] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer dominio de unión del antígeno o el segundo dominio de unión del antígeno contiene una región V_H que contiene un CDR-H1 como se establece en SEQ ID n.° 209, un CDR-H2 como se establece en SEQ ID n.° 210, y un CDR-H3 como se establece en SEQ ID n.° 211 y una región V_L que contiene un CDR-L1 como se establece en SEQ ID n.° 230, un CDR-L2 como se establece en SEQ ID n.° 231, y un CDR-L3 como se establece en SEQ ID n.° 232. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, uno del primer dominio de unión del antígeno o el segundo dominio de unión del antígeno contienen una región de V_H y una región de V_L que contienen las secuencias de aminoácido fijadas en los SEQ ID n.° 197 y 198, respectivamente. En algunas modalidades provistas, el primer dominio de unión del antígeno o el segundo dominio de unión del antígeno contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 241 o una secuencia de aminoácidos que presente al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos un 93%, al menos un 94%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99% de identidad de secuencia al SEQ ID n.° 241.

[000158] En algunas modalidades provistas, uno de los primeros dominios de enlace de antígenos o el segundo dominio de enlace de antígenos contiene una región V_H que contiene un CDR-H1 tal como se establece en SEQ ID n.° 125, un CDR-H2 tal

como se establece en SEQ ID n.°126, y un CDR-H3 tal como se establece en SEQ ID n.°127, y una región V_L que contiene un CDR-L1 tal como se establece en SEQ ID n.°130, un CDR-L2 tal como se establece en SEQ ID n.°131 y un CDR-L3 tal como se establece en SEQ ID n.° 132. En algunas modalidades provistas, uno de los primeros dominios de unión de antígenos o el segundo dominio de unión de antígenos contienen una región V_H y una región V_L que contienen las secuencias de aminoácidos establecidas en los SEQ ID n.° 27 y 28, respectivamente. En algunas modalidades provistas, uno de los primeros dominios de unión de antígenos o el segundo dominio de unión de antígenos contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 8 o una secuencia de aminoácidos que presente al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos un 93%, al menos un 94%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99% de identidad de secuencia al SEQ ID n.° 8.

[000159] En algunas modalidades provistas, uno de los primeros dominios de unión de antígenos o el segundo dominio de unión de antígenos contiene una región V_H que contiene un CDR-H1 como se establece en SEQ ID n.° 209, un CDR-H2 como se establece en SEQ ID n.° 210, y un CDR-H3 como se establece en SEQ ID n.° 211, y una región V_L que contiene un CDR-L1 como se establece en SEQ ID n.° 230, un CDR-L2 como se establece en SEQ ID n.° 231, y un CDR-L3 como se establece en SEQ ID

n.° 232; y el otro del primer dominio de unión del antígeno o el segundo dominio de unión del antígeno contiene un CDR-H1 como se establece en SEQ ID n.°125, un CDR-H2 como se establece en SEQ ID n.° 126, y un CDR-H3 como se establece en SEQ ID n.° 127 y una región V_L que contiene un CDR-L1 como se establece en SEQ ID n.° 130, un CDR-L2 como se establece en SEQ ID n.° 131, y un CDR-L3 como se establece en SEQ ID n.° 132. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, uno del primer dominio de unión de antígenos o el segundo dominio de unión de antígenos contienen una región V_H y una región V_L que contienen las secuencias de aminoácidos establecidas en los SEQ ID n.°197 y 198, respectivamente; y el otro del primer dominio de unión de antígenos o el segundo dominio de unión de antígenos contiene una región V_H y una región V_L que contienen las secuencias de aminoácidos establecidas en los SEQ ID n.° 27 y 28, respectivamente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, uno del primer o segundo dominio de unión de antígenos contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 241 y el otro del primer o segundo dominio de unión de antígenos contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°8.

[000160] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, uno del primer o segundo dominio de unión de antígenos está codificado por la secuencia de nucleótidos

establecida en SEQ ID n.° 310. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, uno del primero o segundo dominio de unión de antígenos está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en los SEQ ID n.° 264 o 311. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer o segundo dominio de unión de antígenos está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 310, y el otro del primer o segundo dominio de unión de antígenos está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 311.

[000161] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) es o contiene un espaciador. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) contiene una porción de una inmunoglobulina. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) contiene una secuencia de una región bisagra, una región de CH2 y CH3. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región bisagra contiene todo o una porción de una región bisagra IgG4 y/o una región bisagra IgG2, donde la región bisagra de IgG4 es opcionalmente una región bisagra IgG4 humana y la región bisagra de IgG2 es opcionalmente una región bisagra de IgG2 humana; la región CH2 contiene la totalidad o una parte de un CH2 de IgG4 y/o un CH2 de IgG2, donde el CH2 de IgG4 es opcionalmente un CH2 de IgG4 humano y el CH2 de IgG2 es opcionalmente un CH2 de IgG2 humano; y/o la

región CH3 contiene la totalidad o una parte de un CH3 de IgG4 y/o un CH3 de IgG2, donde el CH3 de IgG4 es opcionalmente un CH3 de IgG4 humano y el CH3 de IgG2 es opcionalmente un CH3 de IgG2 humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región bisagra, CH2 y CH3 contiene todo o parte de una bisagra, todo o parte de un CH2 y todo o parte de un CH3 de IgG4 humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, una o más de la región bisagra, el CH2 y el CH3 es quimérico y contiene una bisagra, CH2 y CH3 de IgG4 humano y de IgG2 humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) contiene una región bisagra quimérica de IgG4/2 o una región bisagra de IgG4 modificada que contiene al menos un reemplazo de aminoácidos en comparación con una bisagra humana de IgG4; una región quimérica CH2 de IgG2/4; y una región CH3 de IgG4.

[000162] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) es o contiene un espaciador. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) es o contiene un espaciador. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) tiene una longitud de o desde aproximadamente 125 a 300 aminoácidos en longitud, 125 a 250 aminoácidos en longitud, 125 a 230 aminoácidos en longitud, 125 a 200 aminoácidos en longitud, 125 a 180 aminoácidos en longitud, 125 a 150 aminoácidos en longitud, 150 a 300 aminoácidos en longitud, 150 a 250 aminoácidos en

longitud, 150 a 230 aminoácidos en longitud, 150 a 200 aminoácidos en longitud, 150 a 180 aminoácidos en longitud, 180 a 300 aminoácidos en longitud, 180 a 250 aminoácidos de longitud, 180 a 230 aminoácidos de longitud, 180 a 200 aminoácidos de longitud, 200 a 300 aminoácidos de longitud, 200 a 250 aminoácidos de longitud, 200 a 230 aminoácidos de longitud, 230 a 300 aminoácidos de longitud, 230 a 250 aminoácidos de longitud o 250 a 300 aminoácidos de longitud, opcionalmente en los que el espaciador se encuentra en o alrededor de 224, en o alrededor de 225, en o alrededor de 226, en o alrededor de 227, en o alrededor de 228 o en o alrededor de 229 aminoácidos de longitud. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) es o contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 17. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (b) en uno de los primeros CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 48 y (b) en el otro del primer CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 305.

[000163] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (c) es o contiene un dominio transmembrana. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (c) es o contiene un dominio transmembrana de CD4, CD28, o CD8, opcionalmente un dominio transmembrana de CD4 humano,

CD28 humano o CD8 humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (c) es o contiene un dominio transmembrana CD28 humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (c) es o contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 18. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (c) en uno de los primeros CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 56 y (c) en el otro del primer CAR o segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 307.

[000164] En algunas modalidades provistas, (d) es o contiene una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular y una región de señalización costimulante. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular de (d) puede inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, es un componente del receptor de linfocitos T (TCR) y/o contiene un motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular de (d) es o contiene un dominio de señalización citoplasmática de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de esta, opcionalmente una cadena zeta CD3 humana). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de

señalización intracelular de (d) es o contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 20. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el dominio de señalización intracelular de (d) en uno de los primeros CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 58 y el dominio de señalización intracelular de (d) en el otro del primer CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 309. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, (d) es o contiene una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular y una región de señalización costimulatoria. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante de (d) contiene un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulatoria del linfocito T o una porción de señalización de este. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante de (d) contiene un dominio de señalización intracelular de CD28, 4-1BB, o ICOS, o una porción de señalización de este, opcionalmente de CD28 humano, 4-1BB humano o ICOS humano. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización costimulante de (d) contiene un dominio de señalización intracelular de 4-1BB. En algunas de las

modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante de (d) es o contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 19. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la región de señalización coestimulante de (d) en uno de los primeros CAR o el segundo CAR está codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 60 y la región de señalización coestimulante de (d) en el otro del primer CAR o el segundo CAR está codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 308.

[000165] En algunas modalidades provistas, (a) es o contiene el primer dominio de unión del antígeno o el segundo dominio de unión del antígeno, (b) es o contiene un espaciador, (c) es o contiene un dominio transmembrana, y (d) es o contiene una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular y una región de señalización costimulante. En algunas modalidades provistas, uno de los primeros CAR o el segundo CAR contiene (a) un primer dominio de unión de antígenos que se une al GPRC5D, opcionalmente donde el primer dominio de unión de antígenos está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 311, (b) un espaciador codificado por el nucleótido establecido en SEQ ID n.° 305, (c) un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en el SEQ ID n.° 307, y (d) una región de

señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en el SEQ ID n.° 309 y una región de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 308; el otro del primer CAR o del segundo CAR contiene (a) un dominio de unión de antígenos que se une al BCMA, en el que opcionalmente el dominio de unión de antígenos está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 310, (b) un espaciador codificado por el nucleótido establecido en SEQ ID n.° 48, (c) un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 56, y (d) una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 58 y una región de dominio de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 60.

[000166] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la primera secuencia de ácido nucleico que codifica el primer CAR está localizada hacia el extremo 5' del polinucleótido, relativo a la segunda secuencia de ácido nucleico que codifica el primer CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer CAR contiene un dominio de unión de antígenos que se une al GPRC5D y el segundo CAR contiene un dominio de unión de

antígenos que se une al BCMA. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el primer CAR contiene un dominio de unión de antígenos que se une al BCMA y el segundo CAR contiene un dominio de unión de antígenos que se une al GPRC5D.

[000167] También se proporcionan aquí polinucleótidos que contienen (i) una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un primer receptor de antígeno quimérico (CAR), (ii) una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico (CAR) y (iii) una secuencia de nucleótido que codifica un elemento multicistrónico, en el que el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR y el segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR están separados por el elemento multicistrónico; donde el primer CAR contiene un primer dominio de unión de antígenos que se une al GPRC5D, opcionalmente donde el primer dominio de unión de antígenos es codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 311; un espaciador codificado por el nucleótido establecido en SEQ ID n.° 305; un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 307; y una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 309 y una región de señalización coestimulante codificada por la

secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 308; donde el segundo CAR contiene un segundo dominio de unión de antígenos que se une al BCMA opcionalmente donde el segundo dominio de unión de antígenos está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 310; un espaciador codificado por el nucleótido establecido en SEQ ID n.° 48; un dominio transmembranas codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 56; y una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 58 y una región de dominio de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 60; y en la que la primera secuencia de ácido nucleico que codifica el primer CAR se localiza hacia el extremo 5' del polinucleótido en relación con la segunda secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo CAR.

[000168] También se proporcionan aquí polinucleótidos que contienen (i) una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un primer receptor de antígeno quimérico (CAR), (ii) una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico (CAR), y (iii) una secuencia de nucleótido que codifica un elemento multicistrónico, en el que el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR y el segundo ácido nucleico que

codifica el segundo CAR están separados por el elemento multicistrónico; donde el primer CAR contiene un primer dominio de unión de antígenos que se une al BCMA, opcionalmente donde el primer dominio de unión de antígenos está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 310, un espaciador codificado por el nucleótido establecido en SEQ ID n.° 48, un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 56, y una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 58 y una región de dominio de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 60 donde el segundo CAR contiene un segundo dominio de unión de antígenos que se une al GPRC5D, opcionalmente donde el segundo dominio de unión de antígenos está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 311, un espaciador codificado por el nucleótido establecido en SEQ ID n.° 305, un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 307, y una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 309 y una región de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 308; en la que el

primer ácido nucleico que codifica el primer CAR se encuentra hacia el extremo de 5' del polinucleótido en relación con la segunda secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo CAR.

[000169] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el elemento multicistrónico contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 37. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el elemento multicistrónico está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID NOS:44 o SEQ ID N°: 45. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el elemento multicistrónico está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID N°:44. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el elemento multicistrónico está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID N°:45. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el elemento multicistrónico está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID N°:319.

[000170] En algunas modalidades provistas, el polinucleótido contiene la secuencia de nucleótidos establecida en el SEQ ID n.° 299. En algunas modalidades provistas, el polinucleótido codifica la secuencia establecida en el SEQ ID n.° 298.

[000171] En algunas modalidades provistas, el polinucleótido contiene la secuencia de nucleótidos establecida en el SEQ ID

n.° 302. En algunas modalidades provistas, el polinucleótido codifica la secuencia establecida en el SEQ ID n.° 301.

[000172] En algunas modalidades provistas, el polinucleótido contiene la secuencia de nucleótidos establecida en el SEQ ID n.° 315. En algunas modalidades provistas, el polinucleótido contiene la secuencia de nucleótidos establecida en el SEQ ID n.° 316.

[000173] También se proporcionan aquí polinucleótidos, donde un polinucleótido codifica un dominio de enlace GPRC5D, un dominio de enlace BCMA y una región de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización intracelular de un 4-1BB. En algunas modalidades provistas, el polinucleótido contiene la secuencia de nucleótidos establecida en el SEQ ID n.° 317.

[000174] También se suministran vectores que contienen algunos de los polinucleótidos proporcionados. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el vector es un vector vírico. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el vector vírico es un vector lentivírico o un vector retrovírico.

[000175] También se suministran células diseñadas que contienen algunos de los receptores de antígeno quimérico proporcionados en la presente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, las células diseñadas contienen un receptor de antígeno quimérico proporcionado en la

presente y, además, un polinucleótido que contiene una secuencia de nucleótidos que codifican un segundo receptor de antígeno quimérico.

[000176] También se suministran células diseñadas que contienen algunos de los polinucleótidos proporcionados en la presente.

[000177] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada es un linfocito. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada es un linfocito NK o un linfocito T. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada es un linfocito T y el linfocito T es un linfocito T CD4+ o CD8+.

[000178] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada se diseñó a partir de una célula primaria obtenida de un sujeto.

[000179] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la célula diseñada se encuentra entre una pluralidad de células diseñadas en donde menos de o menos de aproximadamente un 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1% de las células de la pluralidad contienen un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica o actividad o señalización independiente del antígeno.

[000180] También se suministran composiciones que contienen algunos de los receptores quiméricos proporcionados en la

presente. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición contiene linfocito T CD4+ y CD8+ y la proporción de linfocito T CD4+ a CD8+ es de o desde aproximadamente 1:3 a 3:1. En determinadas modalidades, la proporción de linfocito T CD4+ y CD8+ en la composición es de 1:2 a 2:1. En algunas modalidades cualesquiera, la proporción de células T CD4+ y CD8+ en la composición es de 1:1. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición contiene, además, un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la composición es estéril.

[000181] También se proveen aquí métodos de tratamiento, incluida la administración de cualquiera de las composiciones provistas aquí que contengan cualquiera de las células diseñadas provistas aquí o cualquiera de las composiciones provistas aquí que contengan cualquiera de los receptores de antígenos quiméricos provistos aquí para un sujeto que tenga una enfermedad o trastorno. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la dosis de células contiene aproximadamente 2.5×10^7 de linfocitos T que expresan CAR y 1.2×10^9 de linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 5.0×10^7 de linfocitos T que expresan CAR y 4.5×10^8 de linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 1.5×10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0×10^8 de linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las

modalidades cualesquiera proporcionadas, la dosis de células contiene aproximadamente entre 1 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y aproximadamente entre 2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades, la dosis de células contiene al menos 1.5 x 10^7, al menos 2.5 x 10^7, al menos 5.0 x 10^7, al menos 7.5 x 10^7, al menos 1.5 x 10^8, al menos 2.25 x 10^8, al menos 3.0 x 10^8, al menos 4.5 x 10^8, al menos 6.0 x 10^8, al menos 8.0 x 10^8 o al menos 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x 10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8 o aproximadamente entre 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En algunas de las modalidades cualesquiera, la dosis de células contiene aproximadamente entre 5.0 x 10^7, aproximadamente entre 1.5 x 10^8, aproximadamente entre 3.0 x 10^8 o aproximadamente entre 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR. En determinadas modalidades, la dosis de las células contiene aproximadamente 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR.

[000182] También se proveen aquí métodos de tratamiento, incluida la administración de cualquiera de las composiciones provistas aquí que contengan cualquiera de las células diseñadas provistas aquí o cualquiera de las composiciones provistas aquí que contengan cualquiera de los receptores de antígenos quiméricos provistos aquí para un sujeto que tenga una enfermedad o trastorno. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, la dosis de células contiene aproximadamente entre 1.0×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2×10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5×10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 2.0×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 3.0×10^8 linfocitos T que expresan CAR.

[000183] También se proporcionan aquí métodos de tratamiento, que incluyen: administrar una composición que contiene una pluralidad de células diseñadas que contienen un primer receptor de antígeno quimérico y un segundo receptor de antígeno quimérico, donde cada uno es cualquier receptor de antígeno quimérico proporcionado aquí o codificado por cualquiera de los polinucleótidos proporcionados aquí, a un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno; y administrar al sujeto una composición que contiene una pluralidad de células diseñadas en segundo lugar que contiene un segundo receptor de antígeno quimérico. En algunas de las modalidades

cualesquiera proporcionadas, la dosis de la pluralidad de primeras células diseñadas y la dosis de la pluralidad de segundas células diseñadas contienen, en forma independiente, aproximadamente entre 1.0×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.5×10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.25×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 0.6×10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 2.5×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 2.25×10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 7.5×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.5×10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 2.5×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2×10^9 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 5.0×10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5×10^8 linfocitos T que expresan CAR, aproximadamente entre 1.5×10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0×10^8 linfocitos T que expresan CAR.

[000184] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, la enfermedad o el trastorno se asocia con la expresión del receptor acoplado a proteína G, clase C, grupo 5, miembro D (GPRC5D).

[000185] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, la enfermedad o trastorno se asocia además con la expresión del antígeno de maduración de los linfocitos B (BCMA).

[000186] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, la enfermedad o trastorno es un trastorno relacionado con los linfocitos B. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, la enfermedad o trastorno asociado con la BCMA es una enfermedad o trastorno autoinmune. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, la enfermedad o trastorno autoinmune es el lupus eritematoso sistémico (LES), la nefritis lúpica y la enfermedad intestinal inflamatoria, artritis reumatoide, vasculitis asociada al ANCA, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), trombocitopenia autoinmune, enfermedad de Chagas, enfermedad de Grave, Granulomatosis de Wegener, poliarteritis nodosa, síndrome de Sjogren, pénfigo vulgar, esclerodermia, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, vasculitis, diabetes mellitus, síndrome de Reynaud, síndrome antifosfolípido, enfermedad de Goodpasture, enfermedad de Kawasaki, anemia hemolítica autoinmune, miastenia grave o glomerulonefritis progresiva.

[000187] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, la enfermedad o trastorno es un cáncer. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, el cáncer es un cáncer que expresa el GPRC5D. En algunas de las

modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, el cáncer es una neoplasia maligna de células plasmáticas y la neoplasia maligna de células plasmáticas es mieloma múltiple (MM) o plasmacitoma. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, el cáncer es el mieloma múltiple (MM). En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, el cáncer es un mieloma múltiple recidivante/refractario.

[000188] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, el sujeto es refractario o ha sufrido una recaída después de la administración de una terapia dirigida a la BCMA, opcionalmente después de la administración de células T que comprenden un CAR que se une específicamente a BCMA. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, se selecciona un sujeto para un tratamiento que es refractario o que ha recaído después de la administración de una terapia dirigida a BCMA, opcionalmente después de la administración de linfocitos T que comprenden un CAR que se une específicamente a BCMA. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, antes de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recibido previamente la administración de una terapia dirigida a BCMA para tratar la enfermedad o

trastorno. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, antes de la administración de la primera dosis de células y la segunda dosis de células, el sujeto ha recibido previamente la administración de una terapia dirigida a BCMA para tratar la enfermedad o trastorno.

[000189] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, la terapia dirigida a BCMA comprende una composición de linfocitos T que comprenden un CAR que se une específicamente a BCMA. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, el sujeto es refractario o ha sufrido una recaída después de la administración de la terapia dirigida a BCMA, opcionalmente después de la administración de linfocitos T que comprenden un CAR que se une específicamente a BCMA. En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas de los métodos proporcionados, el sujeto comprende células de mieloma múltiple que presentan pérdida de antígeno o epítopo de BCMA, disminución de la regulación de BCMA y/o células tumorales negativas a BCMA después de una administración anterior.

Breve Descripción de Las **figuras**

[000190] La **figura** 1A muestra los datos de expresión de ARNm de CD138 de la Enciclopedia de la Línea Celular del Cáncer (escala logarítmica $_2$). Tipo de cáncer, de izquierda a

derecha: aerodigestivo superior (32); esófago (25); próstata (7); mieloma múltiple (30); conducto biliar (8); pulmón (131); páncreas (44); riñón (34); mama (58); colorrectal (61); estómago (38); meningioma (3); hígado (28); glioma (62); osteosarcoma (10); tiroides (12); endometrio (27); tejido blando (21); mesotelioma (11); ovario (51); condrosarcoma (4); pulmón de células pequeñas (53); melanoma (61); neuroblastoma (17); meduloblastoma (4); sarcoma de Ewing (12); Linfoma de Hodgkin (12); DLBCL (18); otro linfoma (28); linfocito B (15); LMC (15); linfoma de Burkitt (11); linfocito T (16); LMA (34); otra leucemia (1).

[000191] La **figura** 1B muestra la expresión de ARNm de GPRC5D en líneas celulares malignas [n=1036; Enciclopedia de la Línea Celular del Cáncer (CCLE)]. RMA, promedio robusto de matrices múltiples; DLBCL, linfoma difuso de linfocitos B grandes; LMC, leucemia mieloide crónica; LLA, leucemia linfoblástica aguda; LMA, leucemia mieloide aguda; NSC, células no pequeñas. Tipo de cáncer, de izquierda a derecha: mieloma múltiple (30); otras leucemias (1); DLBCL (18); LMC (15); meningioma (3); otros linfomas (28); linfoma de Burkitt (11); linfoma de Hodgkin (12); células T (16); Célula B (15); conducto biliar (8); LMA (34); páncreas (44); tiroides (12); colorrectal (61); riñón (34); osteosarcoma (10); tracto urinario (27); mama (58); neuroblastoma (17); pulmón de células no pequeñas (131); sarcoma de Ewing (12); próstata

(7); melanoma (61); aerodigestivo superior (32); endometrio (27); meduloblastoma (4); hígado (28); ovario (51); estómago (38); glioma (62); pulmón de células pequeñas (53); mesotelioma (11); esófago (25); otros (150); condrosarcoma (4).

[000192] La **figura** 2A muestra los datos de expresión de ARNSeq de CD138 GTEx para varios órganos. Tipo de tejido, de izquierda a derecha: cerebelo, hemisferio cerebral, corteza cingular anterior, corteza frontal, corteza, amígdala, hipocampo, núcleo accumbens, caudado, putamen, colon sigmoide, nervio tibial, músculo esquelético, útero, musculatura del esófago, unión gastroesofágica del esófago, hipotálamo, adiposa, cuello uterino, arteria coronaria, médula espinal cervical, sustancia negra, ovario, arteria tibial, tejido mamario, trompa de Falopio, adiposo, riñón, ventrículo izquierdo, cuello uterino, glándula suprarrenal, vejiga, sangre entera, piel (expuesta al sol), piel (no expuesta al sol), arteria aórtica, amígdala, intestino delgado, páncreas, hígado, apéndice auricular, vagina, estómago, próstata, bazo, sangre del cordón umbilical, tiroides, colon transverso, pituitaria, mucosa del esófago, testículos, glándula salival menor, pulmón, médula ósea.

[000193] La **figura** 2B muestra la expresión de ARNm de GPRC5D en tejidos normales de acuerdo con los datos de ARNSeq de Gtex (Gtex 708 ENSG00000111291.4). La línea discontinua

representa el nivel de expresión de GPRC5D en las células MM primarias clasificadas en CD138 (Esbozo ARNseq; n=9). FPKM, fragmentos por kilobase de construcción por millón de lecturas mapeadas. Tipo de tejido, de izquierda a derecha: cerebelo, hemisferio cerebral, corteza cingular anterior, corteza frontal, corteza, amígdala, hipocampo, núcleo accumbens, caudado, putamen, colon sigmoide, nervio tibial, músculo esquelético, útero, musculatura del esófago, unión gastroesofágica del esófago, hipotálamo, adiposa, cuello uterino, arteria coronaria, médula espinal cervical, sustancia negra, ovario, arteria tibial, tejido mamario, trompa de Falopio, adiposa, riñón, ventrículo izquierdo, cuello uterino, glándula suprarrenal, vejiga, sangre entera, piel (expuesta al sol), piel (no expuesta al sol), arteria aórtica, amígdala, intestino delgado, páncreas, hígado, apéndice auricular, vagina, estómago, próstata, bazo, sangre del cordón umbilical, tiroides, colon transverso, pituitaria, mucosa del esófago, testículos, glándula salival menor, pulmón, MM primario (médula ósea).

[000194] La **figura** 2C muestra la expresión GPRC5D ARNm según Blueprint RNAseq para los tipos de células primarias de tejido humano. FPKM, fragmentos por kilobase de construcción por millón de lecturas mapeadas.

[000195] La **figura** 3A muestra las curvas Kaplan-Meier de la supervivencia libre de progresión (PFS) estratificada por

sujetos con MM cuyas expresiones de GPRC5D por RNAseq fue superior (>) o inferior (>) a la expresión media de GPRC5D. Se determinó la significancia a través de la prueba de rango logarítmico de peligros iguales (p=0.0031; n=765).

[000196] La **figura 3B** muestra puntajes del sistema internacional de estadios (ISS) para los sujetos con MM estratificado por nivel de expresión GPRC5D (n=369 superior a la media, 374 inferior a la media).

[000197] Las **figuras 3C-3H** muestran la frecuencia de anormalidades citogenéticas comunes entre los sujetos MM, estratificada por el nivel de expresión GPRC5D (n=287-291 superior a la media, 280-282 inferior a la media).

[000198] La **figura 4A** muestra la cuantificación de valores atípicos en diagramas de caja (boxplot) de la proteína GPRC5D en líneas celulares, luego de la detección inmunohistoquímica. Los diagramas de caja de valores atípicos indican la densidad media en la membrana óptica y el rango intercuartílico; las triquitas son 1.5xIQR. La intensidad de fluorescencia media (MFI) de la expresión GPRC5D en células K562 alteradas por ingeniería para expresar la proteína es determinada mediante el número luego de la línea de células designadas por K562-GPRC5D.

[000199] La **figura 4B** muestra la inmunofluorescencia cuantitativa automatizada en 83 muestras de médula ósea

extraídas de pacientes MM. Cada columna representa una muestra individual de un paciente.

[000200] La **figura 4C** muestra el porcentaje de muestras de pacientes en las que un porcentaje mayor al 50 % de células CD138+ expresó BCMA, GPRC5D, o BCMA o GPRC5D según lo determinado por la inmunofluorescencia cuantitativa automatizada en 83 muestras de médula ósea extraídas de pacientes MM.

[000201] La **figura 4D** muestra la correlación de BCMA y la expresión GPRC5D en células CD138+; R^2= 0.156.

[000202] La **figura 5** muestra los epítopos lineales, conformacionales y discontinuos vinculantes con un subgrupo de scFv dirigidos a GPRC5D evaluados con tecnología basada en ELISA.

[000203] Las **figuras** 6A y 6B muestran la señalización independiente de antígenos (tónica) de los CAR que contienen los scFv y espaciadores indicados. Las células reporteras Jurkat Nur77-RFP fueron transducidas con 1 de 42 construcciones bicistrónicas CAR/GFP. Las células Jurkat GFP+ viables 5x105 fueron incubadas y monitoreadas para expresión del RFP 11 días después de la transducción ante la ausencia de antígenos diana. La expresión de RFP y GFP indicaron señalización tónica; la expresión de GFP único indicó transducción por CAR sin señalización tónica.

[000204] Las **figuras** 6C-6E muestran una señalización dependiente de antígenos en comparación con una señalización independiente de antígenos de los CAR candidatos con espaciadores largos (**figura** 6C), medios (**figura** 6D) y cortos (**figura** 6E), medidos luego de cultivar células reporteras Jurkat Nur77-RFP 2:1 con células MM.1S (que expresa GPRC5D endógeno) por 20 horas. Porcentual de señalización de células T con CAR determinado por: RFP+GFP+/total de células GFP+. Datos representativos de 2 experimentos.

[000205] La **figura** 6F muestra las células transducidas por CAR indicadas como GFP+ a lo largo del eje X se muestra el RFP, un sustituto de la expresión Nur77. Los porcentajes que se muestran corresponden únicamente a las células transducidas con GFP+ (solo los cuadrantes superiores) que son RFP+.

[000206] La **figura** 7A muestra la unión de células HEK293 que expresaron temporalmente uno de una biblioteca de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) con GFP citoplasmático para cocultivar células HEK293 que expresan temporalmente el clon scFv anti-GPRC5D 203, un espaciador largo y un mCherry citoplasmático 761 (ambos en suspensión), cuantificada por el análisis citométrico de flujo automatizado. Umbral preespecificado para significancia (línea roja): Puntaje Z 3; $p<0.0027$

[000207] La **figura** 7B muestra la unión de un anticuerpo quimérico Fc mIgG2a del clon scFv anti-GPRC5D 203 con células HEK293 que expresan las proteínas de superficie celular indicadas. Se muestra la confirmación de la unión con potenciales proteínas off-target y aglutinantes no específicos identificados en una pantalla de micromatriz de >4400 de proteínas transmembranales. ZsGreen1, control transfección; Isotipo, control negativo de Fc scFv-mIgG2a irrelevante; interacción de CTLA-4/CD86, control positivo.

[000208] La **figura** 7C muestra los resultados de la evaluación de potenciales proteínas off-target PCDH1A o FCGR2A para activar a través del CAR GPRC5D(203). Las células reporteras Jurkat de activación de Nur77-RFP que expresan un plásmido bicistrónico que contiene el GFP y el CAR GPRC5D (203) fueron cocultivados con células K562 que expresan los antígenos indicados, GPRC5D (control positivo) o BCMA (control negativo). Se determinó la activación como %RFP+GFP+/total de células GFP+.

[000209] La **figura** 7D muestra que la desactivación mediante CRISPR-Cas9 del GPRC5D de una línea de células MM suprimió la activación de las células reporteras CAR-Jurkat Nur77 GPRC5D (203), según lo evaluado mediante la medición de cambios en la expresión del RFP por citometría de flujo.

[000210] La **figura** 8A muestra la expresión de ARNm GPRC5D en las líneas celulares MM y células primarias MM (en caja).

[000211] La **figura** 8B muestra los resultados de la citotoxicidad de las células T con CAR expresadas en GPRC5D(203) en comparación con las células objetivo MM1.S, OPM2 y RPMI-8226 después de 24 horas de cocultivo, según se indica por lisis porcentual, normalizado con el donante compatible, y células T con transducción simulada con CAR (triplicados técnicos en cada uno de los dos donantes; medio ± SD).

[000212] La **figura** 9A muestra la eliminación celular de células MM OPM2-ffLuc inducida por células T con CAR incorporando el scFv después de 24 horas de cocultivo, según lo indicado por la bioluminiscencia dependiente de ATP; normalizada con control de células tumorales solamente (datos combinados de 2 experimentos, cada uno desarrollado por triplicado, media ± SEM; $p<0.001$).

[000213] La **figura** 9B y 9C muestran el análisis de citometría de flujo que describe la eliminación de las células primarias mononucleares de médula ósea (BMMC) de un paciente con MM con recaídas múltiples después de un cocultivo realizado toda la noche con células T con CAR anti-GPRC5D en una relación 1:1, células T con CAR+:BMMC. Células MM, CD138+/CD38hi; gráficos seleccionadas en viables, células CD3-.

[000214] La **figura** 9D muestra el análisis de citometría de flujo de las BMCC primarias de pacientes adicionales, graficados por CD138+/ CD3-.

[000215] Las **figuras** 10A a 10C muestran las citoquinas producidas por las células T con CAR incorporando el scFv indicado después de cocultivar 1:1 con células MM OPM2, o solo, por 24 horas medido en el sobrenadante con ensayo multiplex Luminex.

[000216] Las **figuras** 11A y 11B muestran la proliferación y Las **figuras** 11C y 11D muestran la activación de células T con CAR con transducción simulada o expresadas en GPRC5D(203) cultivadas solas, con células B-ALL (Nalm6; GPRC5D–) o MM (OPM2; GPRC5D+ endógeno) en una proporción 1:1. Las células T fueron teñidas con CellTrace Violet (CTV) antes de ser cocultivadas, y teñidas para CD4, CD8 y CD25 después de 72 horas (A, B). Se indica la proliferación mediante la dilución de fluorescencia CTV. Se indica la activación (C, D) mediante el incremento de fluorescencia CD25.

[000217] La **figura** 12A muestra el análisis FACS representativo de la expresión de CAR en las linfocitos T con CAR, medido con el uso de un anticuerpo específico al espaciador.

[000218] La **figura** 12B muestra la supervivencia de ratones tratados por 14 días luego de la inyección con OPM2 con

linfocitoos T con CAR que contienen $3x10^6$ 4-1BB que incorporan clones de scFv anti-GPRC5D (n=8/brazo).

[000219] La **figura** 12C muestra el volumen del tumor y la supervivencia en un modelo de xenoinjerto RPMI-8226 de uno de dos experimentos. Promedio de días de supervivencia: 29 VS. 50 ($p<0.05$; n=5/brazo, representativo de dos experimentos).

[000220] La **figura** 12D muestra el volumen del tumor del ratón y la expansión de las linfocitos T con CAR en un modelo de xenoinjerto RPMI-8226, según el monitoreo por citometría de flujo de la sangre periférica mediante el uso de un anticuerpo en el espaciador para detectar el CAR ($p<0.001$; n=10/brazo; ambos puntos temporales).

[000221] La **figura** 13A muestra la supervivencia de los ratones tratados a 21 días después de la inyección de OPM2 con células T $3x10^6$ genéticamente modificadas para expresar una construcción bicistrónica codificando extGLuc y un CD19 (SJ25C1) o GPRC5D (203) scFv que incorpora un CAR y un dominio coestimulatorio 4-1BB o CD28 (n=5/brazo).

[000222] Las **figuras** 13B, 13C y 13D muestran la carga tumoral (imágenes de bioluminiscencia con D-luciferin [BLI] de OPM-ffLuc) de ratones de la **figura** 13A.

[000223] La **figura** 13E muestra los resultados del anidamiento de la célula T con CART (BLI con coelenteracina de linfocitos T con extGLuc CAR) de ratones de la **figura** 13A

realizado 7 días después del tratamiento con linfocitos T con CAR.

[000224] Las **figuras** 14A y 14B muestran la respuesta a la dosis de la terapia con células T con CAR dirigidos a GPRC5D y BCMA, administrada 14 días después de la inyección de OPM2 (n=8 ratones/brazo). En la **figura** 14A, se muestra la carga tumoral según lo evaluado por la BLI de OMP-ffLuc. En la **figura** se muestra el porcentaje de supervivencia (valores p mostrados en comparación con linfocitos T con transducción simulada o dirigidos de manera irrelevante a CAR).

[000225] La **figura** 15A a 15C muestran los niveles IFN-gamma (**figura** 15A), TNF-alfa (**figura** 15B) e IL-2 (**figura** 15C) después de 20 horas del cocultivo de linfocitos T GPRC5D (203), anti-BCMA o procesadas simuladas con 20 tipos diferentes de células primarias humanas normales o células OPM2 (media ± SD).

[000226] La **figura** 15D muestra los resultados del análisis de clones scFv de reacción cruzada de murino o Cynomolgus para la señalización tónica. %RFP+ indica la activación después del cocultivo en una proporción efector: diana de 1:1 (relativo a las células GFP+ transducidas con CAR)-

[000227] Las **figuras** 16A a 16C muestran el cambio de la masa corporal (**figura** 16A), la temperatura corporal (**figura** 16B) o la BLI de las células OPM2-ffLuc (**figura** 16C) luego de la inyección en ratones con linfocitos T humanos 3 x 106

expresadas en un CAR que contiene scFv anti-GPRC5D de reacción cruzada de humano o murino (clon 205).

[000228] La **figura** 17A muestra un análisis FAC representativo de la expresión de CAR según se midió usando un marcador truncado de receptor sustituto en linfocitos T de primates no humanos (NHP) seleccionadas para expresar un CAR GPRC5D de reacción cruzada de cynomolgus o un GPRC5D de cynomolgus.

[000229] La **figura** 17B muestra la lisis diana y la **figura** 17C muestra la producción de IFNγ por las células T NHP seleccionadas para expresar un CAR GPRC5D de reacción cruzada de cynomolgus o linfocitos T simulados en comparación con las células que presentan antígenos diana autólogos (tAPC) en varias proporciones de efector a diana (E:T).

[000230] La **figura** 17D muestra la lisis diana y la **figura** 17E muestra la producción de IFNγ por linfocitos T NHP seleccionados para expresar CAR GPRC5D de reacción cruzada de cynomolgus o linfocitos T simulados en comparación con células diana K562 o K562-GPRC5D en diferentes proporciones objetivo (E:T).

[000231] La **figura** 18A muestra los resultados de PCR para el ADN que codifica el CAR como una medida de persistencia de la célula T con CAR en la sangre periférica y la médula ósea a los 21 días de la infusión. Los linfocitos T de NHP transducidos de CAR se utilizaron como control positivo.

[000232] La **figura** 18B-D muestra los resultados de la evaluación patológica de 1 a 21 días después de la inyección de linfocitos T de cynomolgus modificados para expresar un CAR que contenga el clon 202 scFv anti-GPRC5D de reacción cruzada entre humanos/cynomolgus en monos cynomolgus. La **figura** 18B muestra la temperatura corporal, la **figura** 18C muestra el cambio de la masa corporal y la **figura** 18D muestra la masa corporal.

[000233] La **figura** 19A muestra las imágenes BLI en los días 7 y 15 y la **figura** 19B muestra las imágenes en el día 34 de los ratones inyectados en el día 0 con una población mixta 1x106 de células OPM2WT y células $OPM2^{BCMA-KO}$ (GFP/ffLuc+) e inyectados en los días 8 y 16 con $3x10^6$ de los linfocitos T con CAR indicados. N=5 ratón/brazo, representativo de 2 experimentos.

[000234] Las **figuras** 20A y 20B muestran las células OPM2 en la médula ósea de ratones inyectados con una población mixta de células OPM2 y linfocitos T con CAR según se describe en las **figura** 19A y 19B. Diagramas representativos de 3 ratones por brazo. Se realizó una regulación entre vivos/muertos, pero no se muestra (n=2 experimentos replicados con resultados comparables).

[000235] La **figura** 21A muestra una señalización tónica mínima a través de un CAR anti-BCMA ejemplar.

[000236] La **figura** 21B muestra la lisis de las células diana mediante linfocitos T primarios y humanas que expresan el CAR anti-BCMA ejemplar.

[000237] La **figura** 21C muestra la secreción IFN-gamma de los linfocitos T primarios y humanos que expresan el CAR anti-BCMA ejemplar o después del cocultivo con células diana

[000238] La **figura 22A** muestra una pérdida de la expresión de GPRC5D o de la expresión de BCMA, según lo evaluado en la citometría de flujo, en células OPM2 con GPRC5D o BCMA desactivado, respectivamente.

[000239] La **figura** 22B muestra la activación específica de antígenos de anti-BCMA ejemplar y de CAR anti-GPRC5D.

[000240] La **figura** 23 muestra los niveles de expresión de genes de BCMA y GPRC5D en líneas celulares de mieloma múltiple.

[000241] La **figura** 24 muestra los niveles de expresión de proteínas de BCMA y GPRC5D en líneas celulares de control y mieloma múltiple.

[000242] Las **figuras** 25A y 25B muestran la carga tumoral OPM2 en ratones inyectados con células OPM2 WT (**figura** 25A), células OPM2 BCMA KO (**figura** 25B, panel superior) o células OPM2 GPRC5D KO (**figura** 25B; panel inferior). A los ratones se los trató con composiciones celulares que contenían células que expresaban un anti-BCMA CAR (BCMA) o un anti-GPRC5D CAR (GPRC5D) o que contenían un grupo de células generadas para

contener células expresadas en CAR anti-BCMA o células expresadas en CAR anti-GPRC5D en una proporción de 1:1 (células agrupadas GPRC5D y BCMA).

[000243] La **figura** 26 muestra el porcentaje de supervivencia de ratones inyectados con células tumorosas OPM2 y tratados con tres dosis diferentes de células expresadas en CAR anti-GPRC5D (GPRC5D) o anti-BCMA CAR (BCMA) o un grupo de células expresadas en CAR anti-BCMA y células expresadas en CAR anti-GPRC5D (células agrupadas GPRC5D y BCMA).

[000244] La **figura** 27 muestra el volumen tumores en ratones inyectados con células RPMI8226 y tratados con tres dosis diferentes de células expresadas en CAR anti-GPRC5D (GPRC5D) o células expresadas en CAR anti-BCMA (BCMA) o un grupo de células expresadas en CAR anti-BCMA y células expresadas en CAR anti-GPRC5D (células agrupadas GPRC5D y BCMA).

[000245] La **figura** 28 muestra el porcentaje de supervivencia de los ratones de la **figura** 27.

[000246] La **figura** 29 muestra las estrategias de secuenciación dual de anti-BCMA y de anti-GPRC5D. (I) e (ii) representan grupos de células expresadas en CAR anti-BCMA y células expresadas en CAR anti-GPRC5D (células agrupadas GPRC5D y BCMA). (iii) y (iv) representan las construcciones bicistrónicas, donde cada una contiene un CAR anti-BCMA y un CAR anti-GPRC5D separados por un péptido de autoescisión (V) representa un enfoque de CAR de “tallo único”, donde un scFv

anti-BCMA y un scFv anti-GPRC5D se ubican en tándem, separados solo por un conector.

[000247] La **figura** 30 muestra la expresión de la construcción indicada sobre la superficie de las células, luego de la transducción retroviral de células con las respectivas construcciones de la **figura** 29.

[000248] La **figura** 31 muestra la eficiencia de la transducción retroviral de cada una de las construcciones que se muestran en la **figura** 29, según se evalúa en el análisis de citometría de flujo.

[000249] La **figura** 32A muestra la citotoxicidad de los linfocitos T que expresan las construcciones que se muestran en la **figura** 29 luego del cocultivo con una línea celular de mieloma múltiple OPM2, según lo indicado por el porcentaje de células de lisados tumorales. Se cultivaron los linfocitos T expresados en CAR y las células diana en proporciones E:T crecientes.

[000250] La **figura** 32B muestra la citotoxicidad de las células que expresan las construcciones que se muestran en la **figura** 29 luego del cocultivo con una línea de células OPM2 con BCMA desactivado, según se lo indicado por el porcentaje de células de lisados tumorales. Se cultivaron los linfocitos T expresados en CAR y las células diana en proporciones E:T crecientes.

[000251] La **figura** 33A muestra la habilidad de las células T que expresan las construcciones CAR indicadas para segregar varias citoquinas cuando se las cocultiva con células diana que expresan BCMA y GPRC5D por 24 horas.

[000252] La **figura** 33B muestra la habilidad de los linfocitos T que expresan las construcciones CAR indicadas para segregar varias citoquinas cuando se las cocultiva con células diana que expresan BCMA y son GPRC5D negativo por 24 horas.

[000253] La **figura** 33C muestra la habilidad de los linfocitos T para expresar las construcciones CAR indicadas para segregar varias citocinas cuando se las cocultiva con células diana que expresan GPRC5D con BCMA negativo por 24 horas.

[000254] La **figura** 34A muestra la supervivencia de los ratones inyectados con células de tipo salvaje OPM2, luego del tratamiento con linfocitos T que expresan el /los CAR indicado(s).

[000255] La **figura** 34B muestra la supervivencia del ratón de la **figura** 34A después de una segunda inyección con células OPM2 con BCMA desactivado, luego del tratamiento de linfocitoss T que expresan el/los CAR indicado(s).

[000256] Las **figuras** 35A-35C muestran el crecimiento del tumor, según es evaluado a través de la imagen de bioluminiscencia, en ratones 30 días (**figura** 35A) o 105 días

(**figura** 35B) luego de la inyección inicial con células OPM2 con BCMA desactivado (2 x 106), o 36 días (**figura** 35C) luego de la segunda inyección con células OPM2 con BCMA desactivado (3×10^6), luego del tratamiento con células T que expresan CAR 3×10^6.

[000257] La **figura** 36 muestra la supervivencia de ratones tratados con una baja dosis (5×10^5) de células que expresan el/los CAR indicado(s), luego de la inyección con células de tipo salvaje OPM2 2×10^6.

[000258] Las **figuras** 37A-37C muestran la carga tumoral en ratones, según lo evaluado por imágenes de bioluminiscencia, inyectados con células de tipo salvaje OPM2, después de 0 días (**figura** 37A), 15 días (**figura** 37B) o 22 días (**figura** 37C) de tratamiento con células que expresan el/los CAR indicados.

[000259] La **figura** 38 muestra la carga tumoral en ratones inyectados con una composición mixta de células OPM2 de tipo salvaje y con BCMA desactivado 5-10 %, según lo evaluado por imágenes de bioluminiscencia, y células OPM2 de tipo salvaje y células OPM2 con BCMA desactivado, luego del tratamiento con 5×10^5 de células que expresan el/los CAR indicado(s).

[000260] La **figura** 39 muestra la supervivencia de ratones inyectados con una composición mixta de células OPM2 de tipo salvaje y con BCMA desactivado 5-10 %, luego del tratamiento con 2.5 x 105 de células que expresan el/los CAR indicado(s).

[000261] Las **figuras** 40A-40C muestra la carga tumoral en ratones, según lo evaluado por imágenes de bioluminiscencia, inyectados con una composición mixta de células OPM2 de tipo salvaje y con BCMA desactivado 5-10 %, 0 días (**figura** 40A), 22 días (**figura** 40B) o 34 días (**figura** 40C) luego del tratamiento con 5 x 10^5 de células que expresan el/los CAR indicado(s).

[000262] Las **figuras** 41A y 41B muestran la pérdida de expresión del CAR rezagado (BCMA y GPRC5D, respectivamente) en construcciones bicistrónicas desviadas no codónicas.

[000263] Las **figuras** 42A y 42B muestran la divergencia de codones de las expresiones de rescate de construcciones bicistrónicas del CAR rezagado (BCMA y GPRC5D, respectivamente)

[000264] La **figura** 43 muestra la estimulación de las células reporteras Jurkat Nur77-RFP que expresan el/los CAR indicado(s) luego del cocultivo de células diana.

[000265] Las **figuras** 44A-44C muestran la expresión de IFN-gamma, IL-2 y TNF-alfa (respectivamente) por células T primarias humanas que expresan el/los CAR indicado(s), después del cocultivo con células diana.

[000266] La **figura** 45 muestra la activación específica de antígeno de las células reporteras Jurkat Nur77-RFP transducidas con el/los CAR indicado(s), después del

cocultivo con células OPM2 WT, células OPM2 BCMA KO o células OPM2 GPRC5D KO.

[000267] Las **figuras** 46A-46C muestran la expresión de IFN-gamma, IL-2 y TNF-alfa (respectivamente) mediante células T primarias humanas que expresan el/los CAR indicado(s), cuando se cocultivan con células OPM2 WT, células OPM2 BCMA KO o células OPM2 GPRC5D KO.

[000268] La **figura** 47A muestra la carga tumoral (según lo evaluado por BLI) en ratones inyectados con células OPM2 WT y tratados con células que expresan el/los CAR indicado(s). Las **figuras** 47B y 47C muestran la carga tumoral (según lo evaluado por BLI) en ratones inyectados con una combinación de células OPM2 WT y BCMA KO (**figura** 47B) o una combinación de células OPM2 WT y GPRC5D KO (**figura** 47C) y que fueron tratados con células que expresan el/los CAR indicado(s).

[000269] La **figura** 48 muestra el porcentaje de supervivencia de ratones de las **figura** 47A-C.

Descripción Detallada de la Invención

[000270] En la presente se describen receptores antígenos quiméricos (CAR) que actúan sobre o están dirigidos al receptor G acoplado a proteína, clase C, grupo 5, miembro de D (GPRC5D) y la enfermedad y las células que expresan GPRC5D. Además, se proporcionan células, como las células T, alteradas por ingeniería para expresar un CAR anti-GPRC5D y composiciones que contengan dichas células. Se ha observado

que la GPRC5D se expresa, por ejemplo, de forma heterogénea, en ciertas enfermedades y afecciones como los tumores malignos, o en tejidos o células de los mismos, por ejemplo, en células plasmáticas malignas como las de pacientes con mieloma en recaída o recién diagnosticados, por ejemplo, con poca expresión en tejidos normales. Entre las modalidades que se brindan se encuentran enfoques útiles para el tratamiento de enfermedades y condiciones y/o para el tratamiento de ciertos tipos de células, incluso las moléculas de ácido nucleico que codifican receptores unidos al GPRC5D, incluidos los receptores antígenos quiméricos (CAR) y los receptores codificados como el CAR codificado, y las composiciones y artículos de fabricación que comprenden los mismos. Los receptores generalmente pueden contener anticuerpos (incluso fragmentos de anticuerpos vinculados a antígenos, como las regiones variables de la cadena pesada (V_H), fragmentos de anticuerpos de dominio simple y fragmentos de cadena simple, incluso los scFv) específicos para GPRC5D. También se proporcionan células, como células recombinantes o alteradas por ingeniería como los receptores unidos a GPRC5D, por ejemplo, los CAR anti-GPRC5D y/o que contengan ácidos nucleicos que codifiquen a dichos receptores, y composiciones y artículos de fabricación y dosis terapéuticas que contienen dichas células.

[000271] Las terapias adoptivas con células T, como las terapias con células T con CAR, se han mostrado prometedoras para el tratamiento de mielomas múltiples, con esfuerzos clínicos enfocados principalmente en el antígeno de maduración de célula B (BCMA). Sin embargo, si bien el BCMA se expresa en muchas células plasmáticas malignas, en algunos casos, los niveles de expresión pueden ser heterogéneos. En algunos aspectos, la heterogeneidad en la expresión del antígeno diana puede generar una respuesta variable o inconsistente. En algunos aspectos, también se ha observado que la expresión del BCMA en la superficie de la célula varía con el paso del tiempo debido a la liberación mediada por la gamma secretasa del dominio extracelular. Al igual que con las observaciones de antígenos CAR CD19 y CD22, se ha informado que la subregulación del antígeno BCMA ocurre en pacientes con múltiples mielomas (MM) que han recaído después de la terapia con células T dirigidas al BCMA (Brudno et al. (2018) J. Clin. Oncol., JCO2018778084,; Cohen et al. (2017) Blood 130:505). Además, en algunos contextos, los receptores recombinantes pueden exhibir actividad o señalización independiente del antígeno (también conocido como señalización tónica"), que podría generar efectos no deseados, como debido a la diferenciación y/o agotamiento aumentado de las células T que expresan el receptor recombinante. En algunos aspectos, dichas actividades limitan

la actividad, el efecto o la potencia de las células T. En algunos casos, durante la alteración genética o la expansión ex vivo de las células por la expresión del receptor recombinante, muchas células pueden exhibir fenotipos indicativos del agotamiento, debido a la señalización tónica a través del receptor recombinante. En algunos casos, se necesitan enfoques de terapia adicional o alternativa con células T para MM.

[000272] Las modalidades provistas se relacionan con GPRC5D como una célula T con CAR para el mieloma múltiple. El GPRC5D (Uniprot Acc. No. Q9NZD1, por ejemplo, como se expone en SEQ ID n.°:49) receptor G acoplado a proteína, clase C, grupo 5, miembro de D que pertenece a la familia del RAIG (gen 1 inducible por ácido retinoico). Es un receptor unido a la proteína G 39kDa de 7 hélices transmembrana con dos isoformas informadas, con diferencias de isoformas que ocurren en la C-terminal intracelular de la proteína. Los resultados que se brindan en el presente documento muestran que el GPRC5D se expresa en altos niveles en mielomas múltiples y, en general, se expresan en bajos niveles en la mayoría de tejidos normales.

[000273] Las observaciones que se describen en el presente documento muestran la expresión de proteínas de GPRC5D en células de mieloma múltiple, lo que le da sustento como una posible célula T con CAR diana para tratar MM, incluso en

base a la evaluación de la posible toxicidad en diana/fuera del tumor. Además, entre los receptores antígenos quiméricos están los receptores quiméricos que muestran una baja señalización tónica, minimizando así la posibilidad de la señalización independiente de antígeno (tónica). En particular, los CAR anti-GPRC5D que se describen en el presente documento incluyen CAR con una alta activación dependiente de antígeno y una señalización tónica mínima. En particular, se encuentra que ciertas construcciones, incluso aquellas con una orientación en particular de la cadena pesada variable (V_H) y pesada ligera (V_L) en la porción extracelular del fragmento del anticuerpo del CAR y/o que contiene un espaciador de cierta extensión, exhiben ventajosas propiedades incluidas la alta activación dependiente de antígeno y la baja señalización tónica en comparación con los formatos CAR anti-GPRC5D alternativos, como aquellos con espaciadores más pequeños.

[000274] En algunas modalidades, el espaciador generalmente es una secuencia de aminoácidos que se encuentra entre, de modo que conecte, el dominio extracelular unido al antígeno y el dominio transmembranal del CAR. En modalidades particulares del CAR anti-GPRC5D, el espaciador es una porción de una inmunoglobulina, por ejemplo, IgG4 o IgG2, como una porción que contiene, un dominio bisagra, un dominio CH2 y un dominio CH3. Entre dichos espaciadores existen

porciones de inmunoglobulinas humanas o formas modificadas de la misma, incluso aquellas que tienen una extensión superior a 125 aminoácidos, una extensión superior a 150 aminoácidos, una extensión superior a 180 aminoácidos, una extensión superior a 200 aminoácidos. En algunas modalidades, un espaciador de inmunoglobulina es un espaciador híbrido o quimérico y/o está modificado, de modo tal que reduzca o evite la glicosilación. En algunas modalidades, un CAR anti-GPRC5D incluye un espaciador híbrido/modificado de inmunoglobulina IgG4 CH3 con bisagra IgG4/IgG2 (gG4/IgG2 CH2) como se establece en SEQ ID n.°17.

[000275] En determinadas modalidades, entre los CAR proporcionados aquí están los codificados por polinucleótidos que están optimizados, o contienen determinadas características para la optimización, tal como para el uso de codón, para reducir la heterogeneidad del ARN y/o modificar, por ejemplo, aumentar o tener como resultado lotes del producto celular más consistentes, expresión, tal como la expresión de la superficie, del receptor codificado. En algunas modalidades, los polinucleótidos que codifican las proteínas con superficie celular unida a GPRC5D son modificados en comparación con un polinucleótido de referencia, de modo tal que se eliminen los sitios de corte y empalme ocultos o crípticos, para reducir la heterogeneidad del ARN. En algunas modalidades, los polinucleótidos, que

codifican las proteínas con superficie celular unida al GPRC5D, se optimizan para codones, como para la expresión en mamíferos, por ejemplo, una célula humana, como la célula T humana. En algunos aspectos, los polinucleótidos modificados resultan en una expresión (por ejemplo, una expresión superficial) mejorada (por ejemplo, un nivel aumentado, más uniforme o más consistente) cuando se expresan en una célula. Tales polinucleótidos pueden utilizarse en construcciones para la generación de células modificadas por ingeniería que expresan la proteína codificada de superficie celular unida a GPRC5D. De este modo, también se brindan células que expresan los receptores recombinantes codificados por polinucleótidos que se detallan en el presente documento y los utiliza en una terapia celular adoptiva, como para el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la expresión GPRC5D como, por ejemplo, el mieloma múltiple.

[000276] Se incluyen enfoques de monoterapia que utiliza CAR anti-GPRC5D en células T primarias autólogas para usar en un agente terapéutico contra las células plasmáticas de un mieloma múltiple. En algunas modalidades, el uso de un enfoque de monoterapia puede ser deseable en sujetos que se sabe, se sospecha o fueron seleccionados por tener células plasmáticas MM con baja o sin expresión de BCMA, y/o que han tenido una recaída luego de una remisión, son refractarios a,

no han tenido éxito con el tratamiento con o son intolerantes al tratamiento con CAR anti-BCMA.

[000277] Además, en la presente se proporcionan estrategias multiobjetivo que apuntan a un primer antígeno y a un segundo antígeno asociado con una enfermedad o condición en particular, como el mieloma múltiple. En algunas modalidades, los antígenos específicamente unidos a receptores recombinantes múltiples o con dianas diferentes se codifican por la misma construcción de polinucleótidos, o se incluyen en las mismas células, composiciones o métodos que se incluyen en el presente documento. En algunas modalidades, la pluralidad de los antígenos, por ejemplo, el primer antígeno y el segundo antígeno, se expresa o se sospecha que se expresa en la célula, el tejido o la enfermedad o condición objetivo, tales como las células cancerígenas. En algunos aspectos, la célula, tejido, enfermedad o condición es mieloma múltiple o una célula de mieloma múltiple.

[000278] Por ejemplo, también se proporciona en la presente un enfoque de terapia dual dirigida de células que expresan CAR anti-GPRC5D en combinación con células que expresan CAR anti-BMCA para usar como un agente terapéutico contra las células plasmáticas MM. En algunos aspectos, un enfoque dual dirigido puede ser ventajoso para solucionar las limitaciones asociadas con la expresión heterogénea de BCMA y/o GPRC5D en células plasmáticas MM. Se observa que GPRC5D y BCMA se

expresan, por ejemplo, heterogéneamente expresadas, en ciertas condiciones como neoplasias, o en tejidos o células de las mismas, por ejemplo, en células plasmáticas de la neoplasia para como las presentes en pacientes con mieloma recurrente o recientemente descubiertos, por ejemplo, con poca expresión en tejidos normales. Debido a los roles del GPRC5D y BCMA en varias enfermedades y condiciones, incluido el cáncer, el GPRC5D y el BCMA son dianas terapéuticas.

[000279] En algunos casos, dirigir simultáneamente ambos antígenos como se describe en el presente documento puede mejorar la profundidad y la durabilidad de las respuestas entre los pacientes, además de minimizar la recaída debido al escape del antígeno. Un mecanismo de resistencia a las terapias con células T con CAR, según se evidencia en los ensayos con células T con CAR en neoplasias de células B, puede ser la pérdida o la disminución (“escape”) del antígeno diana. (Robbie G. Majzner and Crystal L. Mackall, Cancer Discov, 22 de agosto de 2018; DOI 10.1158/2159-8290.CD-18-0442). Dicha combinación o estrategia dual dirigida puede alcanzar respuestas tumorales mejoradas o sinergísticas en base a dos antígenos diana comparados con los enfoques de monoterapia que involucran a un único antígeno diana. De hecho, los estudios mencionados en el presente documento demuestran que la expresión de GPRC5D y BCMA son independientes entre sí. Un enfoque dual dirigido puede ser

ventajoso para superar los problemas causados por el potencial para la pérdida de antígenos y/o para maximizar los antígenos dirigidos a MM. Las observaciones que se incluyen en la presente demuestran la expresión de proteínas de GPRC5D, BCMA o ambas, en células de mieloma múltiple, que soportan ambos antígenos como posibles células T diana con CAR para el tratamiento de MM, incluso basado en la evaluación de la posible toxicidad en diana/fuera del tumor.

[000280] Entre las modalidades que se presentan están los enfoques útiles para el tratamiento de enfermedades y condiciones y/o la dirección hacia dichos tipos de células, incluso las moléculas de ácido nucleico que codifican receptores unidos a GPRC5D y receptores unidos a BCMA, incluso los receptores antígenos quiméricos (CAR), y los receptores codificados como los CAR codificados, y composiciones y artículos de fabricación que comprenden los mismos. Por lo general, los receptores pueden contener anticuerpos (incluso fragmentos de anticuerpos unidos a antígenos, como regiones variables de cadena pesada (V_H), fragmentos de anticuerpos de dominio simple y fragmentos de cadena simple, incluso los fragmentos de cadena simple variable [scFv]) específicos para GPRC5D o BCMA. Además, se proporcionan células, como las células recombinantes o modificadas con ingeniería que expresan dichos receptores unidos a GPRC5D, por ejemplo, CAR anti-GPRC5D y receptores

unidos a BCMA, por ejemplo, CAR anti-BCMA, y/o que contengan ácidos nucleicos que codifiquen dichos receptores, y composiciones y artículos de fabricación y dosis terapéuticas que contienen dichas células Entre las modalidades están los polinucleótidos que son bicistrónicos para la expresión de múltiples CAR, como un CAR anti-GPRCD y un CAR anti-BCMA. Las observaciones presentes en este documento demuestran que las expresiones de múltiples CAR, por ejemplo, un CAR anti-GPRC5D y un CAR anti-BCMA de una célula puede mejorarse mediante la divergencia con codón de una secuencia de polinucleótidos que codifica a uno o más CAR. Se encuentra que la divergencia con codón de una construcción de polinucleótidos que codifica dos CAR mejora la expresión de la secuencia de nucleótidos que codifica un CAR que es 3’ prima (o terminal C) relativo a la secuencia de nucleótidos de otro CAR.

[000281] Además, se encuentra que el CAR provisto contiene un espaciador de un largo específico, muestran propiedades ventajosas incluida la alta activación dependiente de antígenos y la baja señalización tónica para formatos alternativos de anti-GPRC5D o anti-BCMA CAR, como aquellos con espacios más pequeños. En algunas modalidades, el componente espaciador de un CAR generalmente es una secuencia de aminoácidos ubicada entre, de modo tal que conecte, el dominio extracelular unido al antígeno y el dominio transmembrana del CAR. En modalidades particulares de un CAR

anti-GPRC5D o anti-BCMA CAR, el espaciador es una porción de una inmunoglobulina, por ejemplo, de IgG4 o IgG2, como una porción que contiene un dominio bisagra, un dominio CH2 y un dominio CH3. Entre dichos espaciadores existen porciones de inmunoglobulinas humanas o formas modificadas de la misma, incluso aquellas que tienen una extensión superior a 125 aminoácidos, una extensión superior a 150 aminoácidos, una extensión superior a 180 aminoácidos, una extensión superior a 200 aminoácidos. En algunas modalidades, un espaciador de inmunoglobulina es un espaciador híbrido o quimérico y/o está modificado, de modo tal que reduzca o evite la glicosilación. En algunas modalidades, un CAR anti-GPRC5D o anti-BCMA incluye espaciador híbrido/modificado de inmunoglobulina IgG4 CH3 con bisagra IgG4/IgG2 (gG4/IgG2 CH2), como se establece en SEQ ID n.°17. En algunas modalidades en particular, el polinucleótido que codifica el CAR contiene una región espaciadora que ha sido modificada para eliminar los sitios de corte y empalme, como sitios de corte y empalme críptico y/o aceptores. Se describen los nucleótidos ejemplificadores que codifican el espaciador. En algunas modalidades, la secuencia de codificación para el espaciador comprende la secuencia de ácido nucleico que se explica en SEQ ID n.°: 48 (además se explica en SEQ ID n.°: 74). En algunas modalidades, los CAR proporcionados exhiben una heterogeneidad de ARNA reducida cuando se los expresa en

células (por ejemplo, células T). En algunas modalidades, los polinucleótidos proporcionados codifican los CAR también pueden ser optimizados por codones para mejorar aún más su expresión.

[000282] Todas las publicaciones, incluyendo documentos de patente, artículos científicos y bases de datos, a los que se hace referencia en esta solicitud se incorporan como referencia en su totalidad con todos los propósitos al mismo grado que si se incorporara individualmente cada publicación individual como referencia. Si una definición expuesta en la presente es contraria a, o de otra manera es inconsistente con una definición expuesta en las patentes, solicitudes, solicitudes publicadas y otras publicaciones que se incorporan en la presente como referencia, la definición expuesta en la presente prevalece sobre la definición que se incorpora en la presente como referencia.

[000283] Los encabezados de sección utilizados en la presente son para propósitos organizacionales solamente y no se van a interpretar como limitantes de la materia descrita.

I. Receptores de unión a GPRC5D y polinucleótidos codificadores

[000284] En algunos aspectos se proporcionan los agentes unidos a GPRC5D, como los receptores recombinantes o los receptores de antígenos quiméricos que se unen a las moléculas GPRC5D y polinucleótidos que codifican proteínas

con superficie celular unida a GPRC5D, como los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) y las células que expresan dichos receptores. Las proteínas con superficie celular unida a GPRC5D generalmente contiene anticuerpos (por ejemplo, fragmentos de anticuerpos unidos a antígenos), y otros péptidos unidos que se unen específicamente con GPRC5D, tales como las proteínas GPRC5D, como las proteínas GPRC5D humanas. En algunos aspectos, los agentes se unen a una porción extracelular de GPRC5D.

[000285] Entre los polinucleótidos proporcionados están aquellos que codifican a los receptores recombinantes, como antígenos receptores, que unen específicamente el GPRC5D. En algunos aspectos, se proporcionan receptores codificados, como aquellos que contienen péptidos unidos a GPRC5D, y composiciones y artículos de fabricación y usos de los mismos.

[000286] Entre los polipéptidos unidos a GPRC5D se encuentran los anticuerpos, como los anticuerpos de cadena simple (por ejemplo, los fragmentos de anticuerpo unidos a antígenos), o porciones de los mismos. En algunos ejemplos, los receptores recombinantes son receptores antígenos quiméricos, como los que contienen anticuerpos anti-GPRC5D o fragmentos unidos a los antígenos de los mismos. Los polinucleótidos proporcionados pueden estar incorporados a construcciones, como construcciones del ácido

desoxirribonucleico (ADN) o ARN, como aquellos que puede introducirse en las células para expresión de los receptores recombinantes codificados unidos a GPRC5D.

1. Componentes de los receptores recombinantes codificados unidos a GPRC5D

[000287] Los receptores unidos a GPRC5D proporcionados generalmente contienen una molécula de unión extracelular y un dominio de señalización intracelular. Entre los receptores proporcionados, están los polipéptidos que contienen anticuerpos, como los receptores de superficie celular recombinantes que contienen anticuerpos anti-GPRC5D. Dichos receptores incluyen receptores de antígenos que contienen dichos anticuerpos.

[000288] Entre los receptores recombinantes proporcionados están los receptores de antígenos que incluyen un fragmento de unión GPRC5D. Los receptores recombinantes incluyen receptores de antígenos que se unen específicamente a GPRC5D.como los receptores de antígenos que contienen anticuerpos anti-GPRC5D, por ejemplo, los fragmentos unidos a los antígenos GPRC5D. Entre los receptores antígenos están los receptores antígenos funcionales no-TCR, como los receptores de antígeno quimérico (CAR). También se proporcionan células que expresan los receptores recombinantes y los usos de estos en terapia celular adoptiva, como el tratamiento de enfermedades y trastornos

asociados con la expresión GPRC5D, por ejemplo, el mieloma múltiple.

a. Dominio de unión de antígeno extracelular

[000289] Entre los receptores quiméricos están los receptores de antígeno quimérico (CAR). Los receptores quiméricos, como los CAR, generalmente incluyen un dominio de unión de antígeno extracelular que incluye, es, o está compuesto por un anticuerpo anti-GPRC5D. Por lo tanto, los receptores quiméricos, por ejemplo, CAR, por lo general incluyen en sus porciones extracelulares una o más moléculas unidas al GPRC5D, como uno o más fragmentos, dominios o porciones unidas a antígenos, o una o más regiones de anticuerpos variables, y/o moléculas de anticuerpos, como las que se describen en el presente documento.

[000290] El término "anticuerpo" es utilizado en el presente documento en el sentido más amplio e incluye anticuerpos policlonales y monoclonales, incluso anticuerpos intactos y fragmentos de anticuerpos funcionales (unidos a antígenos), que incluyen los fragmentos unidos a fragmentos de antígenos (Fab), fragmentos F(ab')2, fragmentos Fab', fragmentos Fv, fragmentos recombinantes de IgG (rIgG), regiones variables de cadena pesada (V_H) capaces de unirse específicamente con el antígeno, fragmentos de anticuerpos de cadena simple, que incluyen los fragmentos de cadena simple variables (scFv), y los fragmentos de anticuerpos de dominio simple (por ejemplo,

sdAb, sdFv, nanocuerpos). El término abarca formas genéticamente modificadas y/o formas modificadas de otra manera de inmunoglobulinas, tal como intracuerpos, pepticuerpos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos completamente humanos, anticuerpos humanizados, y anticuerpos heteroconjugados, anticueros multiespecíficos, *por ejemplo,* biespecíficos o triespecíficos, diacuerpos, triacuerpos, y tetracuerpos, di-scFv intercalado, tri-scFv intercalado. Salvo que se indique lo contrario, el término “anticuerpo” se debe entender que abarca fragmentos de anticuerpo funcionales de los mismos también conocidos en la presente como “fragmentos de unión a antígeno”. El término también abarca anticuerpos intactos o de longitud completa, incluyendo anticuerpos de cualquier clase o subclase, incluyendo IgG y subclases de la misma, IgM, IgE, IgA, e IgD.

[000291] Los términos "región determinante de complementariedad" y "CDR", sinónimos con "región hipervariable" o "HVR", se conocen en la técnica para referirse a secuencias no contiguas de aminoácidos dentro de regiones variables de anticuerpos, que confieren especificidad de antígeno y/o afinidad de unión. En general, hay tres CDR en cada región variable de cadena pesada (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) y tres CDR en cada región variable de cadena ligera (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). Se conoce en la técnica que las "regiones de estructura" y "FR" se refieren a

las porciones no de CDR de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera. En general, hay cuatro FR en cada región variable de cadena pesada de longitud completa (FR-H1, FR-H2, FR-H3, y FR-H4), y cuatro FR en cada región variable de cadena ligera de longitud completa (FR-L1, FR-L2, FR-L3, y FR-L4).

[000292] Los límites precisos de la secuencia de aminoácidos de un CDR o FR en particular pueden determinarse rápidamente mediante el uso de una cantidad de esquemas bien conocidos, incluso los que se describe en Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (esquema de numeración “Kabat”); Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948 (esquema de numeración “Chothia”); MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), “Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography", J. Mol. Biol. 262, 732-745.” (esquema de numeración “Contact”); Lefranc MP et al., “IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,” Dev Comp Immunol, enero de 2003;27(1):55-77 (esquema de numeración “IMGT”); Honegger A and Plückthun A, “Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool,” J Mol Biol, 8 de junio de 2001;309(3):657-70, (esquema de numeración “Aho”); y Martin

et al., “Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm,” PNAS, 1989, 86(23):9268-9272, (esquema de numeración “AbM”).

[000293] Los límites de una CDR o FR determinada pueden variar de acuerdo con el esquema utilizado para la identificación. Por ejemplo, el esquema de Kabat es con base en alineaciones estructurales, en tanto que el esquema de Chothia es con base en información estructural. La numeración para los esquemas tanto de Kabat como de Chothia es con base en las longitudes de secuencia de regiones de anticuerpos más comunes, con inserciones adaptadas por letras de inserción, por ejemplo, "30a", y eliminaciones que aparecen en algunos anticuerpos. Los dos esquemas colocan ciertas inserciones y eliminaciones ("indel") en posiciones diferentes, dando por resultado de esta manera la numeración diferencial. El esquema de Contacto es con base en el análisis de estructuras cristalinas complejas y es similar en muchos aspectos al esquema de numeración de Chothia. El esquema de AbM es un compromiso entre las definiciones de Kabat y Chothia con base en que se utiliza por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular.

[000294] La Tabla 1 que se muestra a continuación, enumera los límites de posición ejemplares de CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 y CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 según lo identificado por los esquemas Kabat, Chothia, AbM y Contact, respectivamente. Para

CDR-H1, la numeración de residuos se lista utilizando los esquemas de numeración tanto de Kabat como de Chothia. FR se ubican entre CDR, por ejemplo, con FR-L1 ubicada antes de CDR-L1, FR-L2 ubicada entre CDR-L1 y CDR-L2, FR-L3 ubicada entre CDR-L2 y CDR-L3 y así sucesivamente. Se observa que debido a que el esquema de numeración de Kabat mostrado coloca inserciones en H35A y H35B, el final del bucle de CDR-H1 de Chothia cuando se numera utilizando la convención de numeración de Kabat mostrada varía entre H32 y H34, dependiendo de la longitud del bucle.

Tabla 1. Límites de CDR de acuerdo con varios esquemas de numeración.

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

1 - Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948

[000295] Por lo tanto, a menos que se especifique lo contrario, deberá entenderse que un “CDR” o “región

determinante complementaria", o CDR individuales especificados (por ejemplo, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) de un determinado anticuerpo o región del mismo, como una región variable, comprende una región determinante complementaria (o la específica) según lo definido por cualquiera de los esquemas antes mencionados o cualquier otro esquema conocido. por ejemplo, donde se indica que un CDR en particular (por ejemplo, un CDR-H3) contiene una secuencia de aminoácidos de un CDR correspondiente en una secuencia de aminoácido con región V_H o V_L, se entiende que dicho CDR tiene una secuencia del CDR correspondiente (por ejemplo, CDR-H3) dentro de la región variable, según lo definido por cualquiera de los esquemas antes mencionados o cualquier otro esquema conocido. En algunas modalidades, se especifican secuencias de CDR específicas. Se describen secuencias de CDR de ejemplo de anticuerpos proporcionados utilizando diversos esquemas de numeración, aunque se entiende que un anticuerpo proporcionado puede incluir CDR como se describe de acuerdo con cualquiera de los diferentes esquemas de numeración mencionados anteriormente u otros esquemas de numeración conocidos por un experto en la técnica.

[000296] De manera similar, salvo que se especifique lo contrario, se debe entender que una FR o una FR específica (por ejemplo, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4), de un anticuerpo determinado o región del mismo, tal como una región variable

del mismo, abarca una región de estructura (o la región específica) como se define por cualquiera de los esquemas conocidos. En algunas instancias, se especifica el esquema de identificación de un CDR, FR, o Fr(s) o CDR(s) en particular, como el CDR según se define en los métodos Kabat, Chothia, AbM o Contact u otros esquemas conocidos. En otros casos, se proporciona la secuencia de aminoácidos determinada. En otros casos, se da la secuencia de aminoácidos particular de una CDR o FR.

[000297] El término "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que se implica en la unión del anticuerpo al antígeno. Las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera (V_H y V_L, respectivamente) de un anticuerpo nativo en general tienen estructuras similares, con cada dominio que comprende cuatro regiones de estructura conservada (FR) y tres CDR. (Consulte, por ejemplo, Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman y Co., página 91 (2007). Un dominio de V_H o V_L individual puede ser suficiente para conferir la especificidad de unión a antígeno. Además, pueden aislarse los anticuerpos que se unen a un antígeno en particular mediante el uso de un dominio V_H o V_L de un anticuerpo que une el antígeno para investigar una biblioteca de dominios V_H o V_L complementarios, respectivamente (consulte, por ejemplo, Portolano et al., J. Immunol.

150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)).

[000298] Entre los anticuerpos incluidos en los CAR proporcionados están fragmentos de anticuerpo. Un "fragmento de anticuerpo" o "fragmento de unión a antígeno" se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al cual se une el anticuerpo intacto. Ejemplos de fragmentos de antígenos incluyen, entre otros, a Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')2; diacuerpos; anticuerpos lineales; regiones variables de cadena pesada (V_H), moléculas de anticuerpos de cadena simple como scFv y anticuerpos de dominio simple compuestos solo por la región V_H; y los anticuerpos multiespecíficos formados por fragmentos de anticuerpos. En algunas modalidades, el dominio de unión a antígeno en el CAR proporcionado es o comprende un fragmento de anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada (V_H) y de cadena ligera (V_L). En modalidades particulares, los anticuerpos son fragmentos de anticuerpo de cadena individual que comprenden una región variable de cadena pesada (V_H) y una región variable de cadena ligera (V_L), tal como scFv.

[000299] Los anticuerpos de dominio simple (sdAbs) son fragmentos de anticuerpos que comprenden toda o una porción de la región variable de cadena pesada o toda o una porción de la región variable de cadena ligera de un anticuerpo. En

ciertas modalidades, un anticuerpo de dominio individual es un anticuerpo de dominio individual humano.

[000300] Se pueden producir fragmentos de anticuerpo por diversas técnicas, incluyendo pero no limitado a, digestión proteolítica de un anticuerpo intacto así como la producción por células hospedadoras recombinantes. En algunas modalidades, los anticuerpos son anticuerpos recombinantemente producidos, tal como fragmentos que comprende arreglos que no se presentan naturalmente, tal como aquellos con dos o más regiones de anticuerpo o cadenas unidas por ligadores sintéticos, por ejemplo, ligadores de péptido, y/o que pueden no producirse por digestión enzimática de un anticuerpo intacto que no se presenta naturalmente. En algunos aspectos, los fragmentos de anticuerpo son scFv.

[000301] Un anticuerpo "humanizado" es un anticuerpo en el cual todos o sustancialmente todos los residuos de aminoácidos de CDR se derivan de CDR no humanas y todos o sustancialmente todos los residuos de aminoácidos de FR se derivan de FR humanas. Un anticuerpo humanizado opcionalmente puede incluir al menos una porción de una región constante de anticuerpo derivada de un anticuerpo human. Una "forma humanizada" de un anticuerpo no humano, se refiere a una variante del anticuerpo no humano que ha experimentado humanización, habitualmente para reducir la inmunogenicidad a

humanos, en tanto que se retiene la especificidad y afinidad del anticuerpo no humano paternal. En algunas modalidades, algunos residuos de FR en un anticuerpo humanizado se sustituyen con residuos correspondientes de un anticuerpo no humano (por ejemplo, el anticuerpo del cual se derivan los residuos de CDR), por ejemplo, para restaurar o mejorar la afinidad o especificidad de anticuerpo.

[000302] Entre los anticuerpos anti-GPRC5D incluidos en los CARs proporcionados se encuentran anticuerpos humanos. Un "anticuerpo humano" es un anticuerpo con una secuencia de aminoácidos que corresponde a esa de un anticuerpo producido por un ser humano o una célula humana, o fuente no humana que utiliza repertorios de anticuerpos humanos u otras secuencias de codificación de anticuerpos humanos, incluyendo bibliotecas de anticuerpos humanos. El término excluye las formas humanizadas de anticuerpos no humanos que comprenden regiones de unión a antígeno no humanas, tal como aquellas en las cuales todas o casi todas las CDR son no humanas. El término incluye fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos humanos.

[000303] Los anticuerpos humanos se pueden preparar al administrar un inmunógeno a un animal transgénico que se ha modificado para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta al desafío antigénico. Estos animales habitualmente

contienen todos o una porción de los locus de inmunoglobulina humana, que reemplazan a los locus de inmunoglobulina endógena, o que están presentes extracromosómicamente o se integran aleatoriamente en los cromosomas del animal. En estos animales transgénicos, los locus de inmunoglobulina endógena se han desactivado en general. Los anticuerpos humanos también se pueden derivar de bibliotecas de anticuerpos humanos, incluyendo bibliotecas de expresión en fago y libres de células, que contienen secuencias de codificación de anticuerpos derivadas de un repertorio humano.

[000304] Entre los anticuerpos incluidos en los CAR proporcionados están los que son anticuerpos monoclonales, incluyendo fragmentos de anticuerpos monoclonales. El término "anticuerpo monoclonal" que se usa en el presente documento hace referencia a un anticuerpo que se obtiene de o dentro de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden a la población son idénticos, excepto por las variantes posibles que contienen mutaciones que ocurren de forma natural o que surgen durante la producción de una preparación de anticuerpo monoclonal, dichas variantes generalmente están presentes en menores cantidades. En contraste a las preparaciones de anticuerpos policlonales, que habitualmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes epítopos,

cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpos monoclonales se dirige contra un epítopo individual en un antígeno. El término no se va a interpretar como que requiere la producción del anticuerpo por cualquier método particular. Un anticuerpo monoclonal se puede fabricar por una variedad de técnicas, incluyendo pero no limitado a la generación a partir de un hibridoma, métodos de ADN recombinante, métodos de expresión en fagos y otros métodos de expresión en anticuerpos.

[000305] En algunas modalidades, el CAR incluye una porción o porciones unidas a GPRC5D de la molécula del anticuerpo, como una región variable de cadena pesada (V_H) y/o una región variable de cadena ligera (V_L) del anticuerpo, por ejemplo, un fragmento de anticuerpo scFv. En algunas modalidades, el CAR unido a GPRC5D proporcionado contiene un anticuerpo, como el anticuerpo anti-GPRC5D o un fragmento de unión al antígeno del mismo que confiere las propiedades de unión a GPRC5D del CAR proporcionado. En determinadas modalidades, el dominio de unión a antígeno o el anticuerpo puede ser cualquier anticuerpo antiGPRC5D descrito o derivar de cualquier anticuerpo antiGPRC5D descrito (véase, por ejemplo, WO 2016/090312, WO 2016/090329, WO 2018/017786). Cualquiera de esos anticuerpos anti-GPRC5D o fragmentos de unión al antígeno puede utilizarse en los CAR proporcionados. En determinadas modalidades, el CAR antiGPRC5D contiene un

domino de unión a antígeno que es un scFv que contiene una región variable pesada (V_H) y/o una variable ligera (V_L) derivada de un anticuerpo descrito en WO 2016/090312, WO 2016/090329, o WO 2018/017786.

[000306] En determinadas modalidades, el anticuerpo, por ejemplo, el anticuerpo antiGPRC5D o el fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de región variable de cadena pesada y/o ligera (V_H o V_L) tal como se describió, o una porción suficiente de la unión a antígeno de esto. En determinadas modalidades, el anticuerpo antiGPRC5D, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de región V_H o porción suficiente de la unión a antígeno de esto que contiene CDR-H1, CDR-H2 y/o CDR-H3 tal como se describió. En determinadas modalidades, el anticuerpo antiGPRC5D, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de región V_L o porción suficiente de la unión a antígeno que contiene CDR-L1, CDR-L2 y/o CDR-L3 tal como se describió. En determinadas modalidades, el anticuerpo antiGPRC5D, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de región V_H que contiene CDR-H1, CDR-H2 y/o CDR-H3 tal como se describió y contiene una secuencia de región V_L que contiene CDR-L1, CDR-L2 y/o CDR-L3 tal como se describió. También, entre los anticuerpos están aquellos que poseen secuencias al menos de o aproximadamente de 90 %, de o aproximadamente de 91 %, de o

aproximadamente de 92 %, de o aproximadamente de 93 %, de o aproximadamente de 94 %, de o aproximadamente de 95 %, de o aproximadamente de 96 %, de o aproximadamente de 97 %, de o aproximadamente de 98 % o de o aproximadamente de 99 % idénticas a dicha secuencia.

[000307] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo, en el CAR proporcionado, tiene una región V_H de cualquiera de los anticuerpos o de los fragmentos de unión a anticuerpo descritos en cualquiera de WO 2016/090312, WO 2016/090329, y WO 2018/017786.

[000308] En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de este, que tiene una región variable de cadena pesada (V_H) que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31, o 33, o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con la región V_H de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31, o 33, o contiene un CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3 presentes en dicha secuencia V_H.

[000309] En algunas modalidades, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo está

compuesta por CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3 según la numeración Kabat. En algunas modalidades, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo está compuesta por CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3 según la numeración Chothia. En algunas modalidades, la región V_H de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo está compuesta por CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3 según la numeración AbM.

[000310] En algunas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, que tiene una región variable de cadena pesada (V_H) que comprende un CDR-H1 compuesto por la secuencia de aminoácidos seleccionada de los SEQ ID n.°: 75, 78, 80, 82, 90, 93, 95, 97, 105, 108, 110, 112, 120, 123, 125, 127, 135, 138, 140, 142, 152, 162, 165, 167, y 169; (b) un CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácido seleccionada de los SEQ ID n.°: 76, 79, 81, 83, 91, 94, 96, 98, 106, 109, 111, 113, 121, 124, 126, 128, 136, 139, 141, 143, 150, 153, 154, 155, 163, 166, 168, y 170; y (c) un CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácido seleccionada de los SEQ ID n.°: 77, 84, 92, 99, 107, 114, 122, 129, 137, 144, 151, 156, 164 y 171.

[000311] En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo está compuesta por una región V_H que comprende un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°:75, 76 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°:78, 79 y 77, respectivamente; SEQ

ID n.°:80, 81 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°:82, 83 y 84, respectivamente; SEQ ID n.°:90, 91 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°:93, 94 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°:95, 96 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°:97, 98 y 99, respectivamente; SEQ ID n.°:105, 106 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°:108, 109 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°:110, 111 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°:112, 113 y 114, respectivamente; SEQ ID n.°:120, 121 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°:123, 124 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°:125, 126 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°:127, 128 y 129, respectivamente; SEQ ID n.°:135, 136 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°:138, 139 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°:140, 141 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°:142, 143 y 144, respectivamente; SEQ ID n.°:135, 150 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°:152, 153 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°:140, 154 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°:142, 155 y 156, respectivamente; SEQ ID n.°:162, 163 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°:165, 166 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°:167, 168 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°:169, 170 y 171, respectivamente.

[000312] En algunas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácido de los SEQ ID n.°:75, 76 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°:78, 79 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°:80, 81 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°:82, 83 y 84, respectivamente; SEQ ID n.°:90, 91 y 92,

respectivamente; SEQ ID n.°:93, 94 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°:95, 96 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°:97, 98 y 99, respectivamente; SEQ ID n.°:105, 106 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°:108, 109 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°:110, 111 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°:112, 113 y 114, respectivamente; SEQ ID n.°:120, 121 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°:123, 124 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°:125, 126 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°:127, 128 y 129, respectivamente; SEQ ID n.°:135, 136 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°:138, 139 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°:140, 141 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°:142, 143 y 144, respectivamente; SEQ ID n.°:135, 150 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°:152, 153 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°:140, 154 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°:142, 155 y 156, respectivamente; SEQ ID n.°:162, 163 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°:165, 166 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°:167, 168 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°:169, 170 y 171, respectivamente.

[000313] En algunas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3, respectivamente, que comprende una secuencia de aminoácido de un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 contenido dentro de la región V_H de la secuencia de aminoácido que se enuncia en cualquiera de los SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33.

[000314] En algunas modalidades del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se proporciona en el presente documento, la región V_H comprende uno de los CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 según se describe y comprende una región base 1 (FR1), una FR2, una FR3 y/o una FR4 que tiene al menos el o aproximadamente el 90 %, el o aproximadamente el 91 %, el o aproximadamente el 92 %, el o aproximadamente el 93 %, el o aproximadamente el 94 %, el o aproximadamente el 95 %, el o aproximadamente el 96 %, el o aproximadamente el 97 %, el o aproximadamente el 98 % o al menos el o aproximadamente el 99 % de la identidad de la secuencia, respectivamente a un FR1, un FR2, un FR3 y/o un FR4 contenidos dentro de una secuencia de aminoácido con región V_H que se enuncia en cualquiera de los SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33.

[000315] En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento unido al antígeno del mismo, comprende una región V_H compuesta por la secuencia de aminoácido que se enuncia en cualquiera de los SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33.

[000316] En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo, del CAR proporcionado (por ejemplo, el CAR anti-GPRC5D), comprende una región V_H que además comprende una cadena ligera o una porción suficiente de unión al antígeno del mismo. Por ejemplo, en algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo contiene una región V_H y una región V_L, o una porción

suficiente de unión al antígeno de la región V_H y V_L. En dichas modalidades, una secuencia de la región V_H puede ser cualquiera de las secuencias V_H descritas más arriba. En dichas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de unión al antígeno, como un Fab o un scFv. En algunas de dichas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de extensión completa que también contiene una región constante.

[000317] En determinadas modalidades, un CAR que se proporciona en la presente contiene un anticuerpo tal como el anti-GPRC5D, o un fragmento de unión al antígeno de este, que posee cualquiera de las regiones variables de la cadena pesada (V_H) anteriores y una región variable de la cadena liviana o una porción de unión al antígeno suficiente de estas. Por ejemplo, En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este que comprenden una región V_H y una región variable de la cadena liviana (V_L), o bien una porción de unión al antígeno suficiente de una región V_H y V_L. En dichas modalidades, una secuencia de la región V_H puede ser cualquiera de las secuencias V_H descritas más arriba. En dichas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de unión al antígeno, como un Fab o un scFv. En algunas de dichas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de extensión completa que también contiene una región constante.

[000318] En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno tiene una región V_L descrita en WO 2016/090312, WO 2016/090329 y WO 2018/017786.

[000319] En determinadas modalidades, el informe de la autoridad contiene un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, el cual posee una región variable de la cadena liviana (V_L) que, a su vez, contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68, o 69, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos o aproximadamente un 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia en relación con el aminoácido de la región V_L que se selecciona de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68 o 69, o contiene una región determinante de la complementariedad L1 (CDR-L1), una región determinante de la complementariedad L2 (CDR-L2) o una región determinante de la complementariedad L3 (CDR-L3) en la secuencia de la V_L. En determinadas modalidades, el informe de la autoridad contiene un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, el cual posee una región variable de la cadena liviana (V_L) que, a su vez, contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada

de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32 o 34, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos o aproximadamente el 90 %, al menos o aproximadamente el 91 %, al menos o aproximadamente el 92 %, al menos o aproximadamente el 93 %, la menos o aproximadamente el 94 %, al menos o aproximadamente el 95 %, al menos o aproximadamente el 96 %, al menos o aproximadamente el 97 %, al menos o aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia en relación con el aminoácido de la región V_L que se selecciona de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32 o 34, o contiene una CDR-L1, una CDR-L2 o una CDR-L3 en la secuencia de V_L. En determinadas modalidades, el informe de la autoridad contiene un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, el cual posee una región variable de la cadena liviana (V_L) que, a su vez, contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.°: 63, 64, 65, 66, 67, 68 o 69, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia en relación con el aminoácido de la región V_L que se selecciona de SEQ ID n.°: 63, 64, 65, 66,

67, 68 o 69, o contiene una CDR-L1, una CDR-L2 o una CDR-L3 en la secuencia de V_L.

[000320] En determinadas modalidades, la región V_L de un anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una CDR-L1, una CDR-L2 o una CDR-L3 según la numeración de Kabat. En determinadas modalidades, la región V_L de un anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una CDR-L1, una CDR-L2 o una CDR-L3 según la numeración de Chothia. En determinadas modalidades, la región V_L de un anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una CDR-L1, una CDR-L2 o una CDR-L3 según la numeración de AbM.

[000321] En determinadas modalidades, el informe de la autoridad contiene un anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este, los cuales poseen una región variable de la cadena liviana (V_L) que, a su vez, contiene un CDR-L1 con la secuencia de aminoácidos seleccionada de los SEQ ID n.°: 85, 88, 100, 103, 115, 118, 130, 133, 145, 148, 157, 160, 172 y 174; (b) una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de los SEQ ID n.°: 86, 89, 101, 104, 116, 119, 131, 134, 146, 149, 158 y 161; (c) una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de los SEQ ID n.°: 87, 102, 117, 132, 147, 159, 173 y 175.

[000322] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprenden una región

V_L que contiene CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, que poseen la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.° 85, 86 y 87, respectivamente; los SEQ ID n.° 88, 89 y 87, respectivamente; los SEQ ID n.° 100, 101 y 102, respectivamente; los SEQ ID n.° 103, 104 y 102, respectivamente; los SEQ ID n.° 115, 116 y 117, respectivamente; los SEQ ID n.° 118, 119 y 117, respectivamente; los SEQ ID n.° 130, 131 y 132, respectivamente; los SEQ ID n.° 133, 134 y 132, respectivamente; los SEQ ID n.° 145, 146 y 147, respectivamente; los SEQ ID n.° 148, 149 y 147, respectivamente; los SEQ ID n.° 157, 158 y 159, respectivamente; los SEQ ID n.° 160, 161 y 159, respectivamente; los SEQ ID n.° 172, 86 y 173, respectivamente; los SEQ ID n.° 174, 89 y 175, respectivamente, y los SEQ ID n.° 174, 89 y 297, respectivamente.

[000323] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprenden una región V_L que contiene la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.° 85, 86 y 87, respectivamente; los SEQ ID n.° 88, 89 y 87, respectivamente; los SEQ ID n.° 100, 101 y 102, respectivamente; los SEQ ID n.° 103, 104 y 102, respectivamente; los SEQ ID n.° 115, 116 y 117, respectivamente; los SEQ ID n.° 118, 119 y 117, respectivamente; los SEQ ID n.° 130, 131 y 132,

respectivamente; los SEQ ID n.° 133, 134 y 132, respectivamente; los SEQ ID n.° 145, 146 y 147, respectivamente; los SEQ ID n.° 148, 149 y 147, respectivamente; los SEQ ID n.° 157, 158 y 159, respectivamente; los SEQ ID n.° 160, 161 y 159, respectivamente; los SEQ ID n.° 172, 86 y 173, respectivamente; los SEQ ID n.° 174, 89 y 175, respectivamente, y los SEQ ID n.° 174, 89 y 297, respectivamente

[000324] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este contienen CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, respectivamente, que se encuentran dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L que se selecciona de los SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68, o 69. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este contienen CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, respectivamente, que se encuentran dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L que se selecciona de los SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32 o 34. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este contienen CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, respectivamente, que se encuentran dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L que se selecciona de los SEQ ID n.°: 63, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

[000325] Entre los informes de la autoridad competente proporcionados por medio de la presente, hay un informe que indica que el anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-GPRC5D, o un fragmento de este comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia en relación con la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de los SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia en relación con la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de los SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

[000326] En determinadas modalidades, la región de V_H del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3, respectivamente, que contienen las secuencias de aminoácidos

de CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3, que se encuentran dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H que se selecciona de cualquiera de los SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33, y comprenden una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3, respectivamente, que contienen las secuencias de aminoácidos de CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, respectivamente, que se encuentran dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L que se selecciona de cualquiera de los SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68, o 69.

[000327] En determinadas modalidades, la región V_H del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33, y las regiones V_L del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprenden la secuencia de aminoácidos 22, 24, 26, 28, 30, 32 o 34. En determinadas modalidades, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este comprende las secuencias de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 21 y 22, respectivamente; los SEQ ID n.°: 21 y 22, respectivamente; SEQ ID N.°: 23 y 24, respectivamente; SEQ ID N.°: 25 y 26, respectivamente; SEQ ID N.°: 27 y 28, respectivamente; SEQ ID N.°: 29 y 30, respectivamente; SEQ ID N.°: 31 y 32, respectivamente, o los SEQ ID n.°: 33 y 34, respectivamente, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que tengan al menos el 90 % de la identidad de secuencia

en relación con cualquiera de las V_H y V_L, tales como, al menos, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de la identidad de secuencia aquí descrita.

[000328] Por ejemplo, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno, que se proporcionan por medio de la presente, comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas de los SEQ ID N.°: 21 y 22; SEQ ID n.°: 23 y 24; SEQ ID n.°: 25 y 26; SEQ ID n.°: 27 y 28; SEQ ID n.°: 29 y 30; SEQ ID n.°: 31 y 32; SEQ ID n.°: 33 y 34, respectivamente. En otros ejemplos, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno, que se proporcionan por medio de la presente, comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas de los SEQ ID N.°: 21 y 63; SEQ ID n.°: 23 y 64; SEQ ID n.°: 25 y 65; SEQ ID n.°: 27 y 66; SEQ ID n.°: 29 y 67; SEQ ID n.°: 31 y 68; SEQ ID n.°: 33 y 69, respectivamente.

[000329] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este, según el CAR proporcionado, representan un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tales como el fragmento de cadena simple variable (scFv), el diacuerpo o anticuerpo monodominio (sdAb). En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo de dominio individual que comprende sólo la región V_H. En algunas modalidades, el

anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un scFv que comprende una región variable de cadena pesada (V_H) y una región variable de cadena ligera (V_L). En determinadas modalidades, el fragmento de anticuerpo de cadena simple (scFv) comprende uno o más conectores que se unen a dos dominios o regiones del anticuerpo, tales como la región variable de la cadena pesada (V_H) y la región variable de la cadena liviana (V_L). El ligador habitualmente es un ligador de péptido, por ejemplo, un ligador de péptido flexible y/o soluble. Entre los ligadores están aquellos ricos en glicina y serina y/o, en algunos casos, ricos en treonina. En algunas modalidades, los ligadores incluyen además residuos cargados tal como lisina y/o glutamato, que pueden mejorar la solubilidad. En algunas modalidades, los ligadores incluyen además una o más prolinas.

[000330] En consecuencia, los informes de la autoridad competente proporcionados contienen anticuerpos anti-GPRC5D que incluyen fragmentos de anticuerpo de cadena simple, tales como los scFv y los diacuerpos, especialmente los fragmentos de anticuerpo de cadena simple humanos que, por lo general, comprenden conectores que se unen a dos regiones o dominios de anticuerpo, tales como las regiones V_H y V_L. Generalmente, el conector es de naturaleza peptídica; por ejemplo, un conector peptídico soluble o flexible, tales como aquellos ricos en glicina y serina.

[000331] En algunos aspectos, los conectores ricos en glicina y serina (o treonina) incluyen, al menos, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 %, tales como los aminoácidos. En determinadas modalidades, incluyen al menos o aproximadamente el 50 %, el 55 %, el 60 %, el 70 % o el 75 %, así como glicina, serina o treonina. En algunas modalidades, el ligador se compone de manera sustancialmente completa de glicina, serina, y/o treonina. Los ligadores habitualmente son de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, habitualmente entre, o de aproximadamente 10 y de, o de aproximadamente 30, por ejemplo, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30, y en algunos ejemplos de entre 10 y 25 aminoácidos de longitud. Entre algunos ejemplos de conectores, se encuentran los conectores que poseen varios números de repeticiones de la secuencia GGGGS (4GS; SEQ ID n.°: 50) o GGGS (3GS, SEQ ID n.°: 51), tal como entre 2, 3, 4, y 5 repeticiones de esta secuencia. Los ligadores de ejemplo incluyen aquellos que tienen o que constan de una secuencia expuesta en SEQ ID N.°: 52 (GGGGSGGGGSGGGGS). Los ligadores de ejemplo incluyen además aquellos que tienen o que constan de la secuencia expuesta en SEQ ID N.°: 53 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG). Los ligadores de ejemplo incluyen además aquellos que tienen o que constan de la secuencia

expuesta en SEQ ID N.°: 54 (SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA). Entre algunos conectores, se encuentran los que contienen o consisten en una secuencia establecida en SEQ ID n.°: 47 (GSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA).

[000332] En consecuencia, En determinadas modalidades, los anticuerpos proporcionados comprenden fragmentos de anticuerpo de cadena simple, como el caso de los scFv, que contienen uno o más de los conectores mencionados anteriormente, tales como aquellos ricos en glicina o serina, incluidos los conectores con repeticiones de GGGS (SEQ ID n.°: 51) o GGGGS (SEQ ID N.°: 50), tal como el conector establecido en SEQ ID n.°: 47, 52 o 54.

[000333] En determinadas modalidades, la región V_H puede ser aminoterminal para la región V_L. En determinadas modalidades, la región V_H puede ser carboxiterminal para la región V_L. En determinadas modalidades, el fragmento (scFv) puede incluir una región V_H o una porción de esta seguida del conector y de una región V_L o una porción de esta. En determinadas modalidades, el fragmento (scFv) puede incluir una región V_L o una porción de esta seguida del conector y de una región V_H o una porción de esta.

[000334] En algunos aspectos, un scFv proporcionado por intermedio de la presente comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 1-14, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos

aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad de la secuencia en relación con los secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de los SEQ ID n.°: 1-14.

[000335] Entre uno de los CAR anti-GPRC5D proporcionados, se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 21 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 %, o aproximadamente el 99 % de identidad con SEQ ID n.° 21; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 22 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad

para SEQ ID n.° 22. En algunas modalidades, el CAR proporcionado es un CAR en el cual el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 21 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para SEQ ID n.° 21; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 63 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 63. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 75, 76 y 77, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 85, 86, y 87, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a

antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 78, 79 y 77, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 85, 86, y 87, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 80, 81 y 77, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 85, 86, y 87, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 82, 83 y 84, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 88, 89 y 87, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:21 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:22. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:21 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID

N.°:63. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 1, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 1. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 257, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 257. En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 2, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de

identidad para SEQ ID n.° 2. En algunas modalidades, el snFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 258 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 258.

[000336] Entre uno de los CAR anti-GPRC5D proporcionados, se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 23 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 %, o aproximadamente el 99 % de identidad con SEQ ID n.° 23; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 24 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %,

aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 24. En algunas modalidades, el CAR proporcionado es un CAR en el cual el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 23 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para SEQ ID n.° 23; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 64 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 64. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 90, 91, 92, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N°:100, 101 y 102, respectivamente. En algunas

modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 93, 94 y 92, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 95, 96 y 92, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 97, 98 y 99, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 103, 104 y 102, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:23 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:24. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:23 y la región V_L comprende

la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:64. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 3, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 3. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 259, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 259. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 4, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de

identidad para SEQ ID n.°: 4. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 260, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 260.

[000337] Entre uno de los CAR anti-GPRC5D proporcionados, se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 25 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 %, o aproximadamente el 99 % de identidad con SEQ ID n.° 25; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 26 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %,

aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 26. En algunas modalidades, el CAR proporcionado es un CAR en el cual el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 25 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para SEQ ID n.° 25; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 65 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 65. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 105, 106, 107, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente. En algunas

modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 108, 109 y 107, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 110, 111 y 107, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 112, 113 y 114, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 118, 119 y 117, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:25 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:26. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:25 y la región V_L comprende

la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:65. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 5, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 5. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 261, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 261. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 6, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de

identidad para SEQ ID n.°: 6. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 262, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 262.

[000338] Entre uno de los CAR anti-GPRC5D proporcionados, se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 27 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 %, o aproximadamente el 99 % de identidad con SEQ ID n.° 27; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 28 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %,

aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 28. En algunas modalidades, el CAR proporcionado es un CAR en el cual el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 27 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para SEQ ID n.° 27; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 66 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 66. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 120, 121 y 122, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 130, 131 y 132, respectivamente.

En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 123, 124 y 122, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 125, 126 y 122, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 127, 128 y 129, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 133, 134 y 132, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:27 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:28. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia

expuesta en SEQ ID N.°:27 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:66. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 7, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 7. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 263, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 263. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 8, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente

el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 8. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 264, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 264.

[000339] Entre uno de los CAR anti-GPRC5D proporcionados, se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 29 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 %, o aproximadamente el 99 % de identidad con SEQ ID n.° 29; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 30 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %,

aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 30. En algunas modalidades, el CAR proporcionado es un CAR en el cual el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 29 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para SEQ ID n.° 29; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 67 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 67. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 135, 136 y 137, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID N.°: 145, 146 y 147, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 138, 139 y 137, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 145, 146 y 147, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 140, 141 y 137, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 145, 146 y 147, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 142, 143 y 144, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 148, 149 y 147, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:29 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:30. En

algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:29 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:67. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 9, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 9. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 265, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 265. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 10, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %,

aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 10. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 266, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 266.

[000340] Entre uno de los CAR anti-GPRC5D proporcionados, se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 31 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 %, o aproximadamente el 99 % de identidad con SEQ ID n.° 31; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 32 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %,

aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 32. En algunas modalidades, el CAR proporcionado es un CAR en el cual el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 31 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para SEQ ID n.° 31; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 68 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 68. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 135, 150 y 151, respectivamente, y una región V_L que tiene una

CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 157, 158 y 159, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 152, 153 y 151, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 140, 154 y 151, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 142, 155 y 156, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 160, 161 y 159, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:31 y la región

V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:32. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:31 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:68. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 11, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 11. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 267, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 267. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 12, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %,

aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 12. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 268, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 268.

[000341] Entre uno de los CAR anti-GPRC5D proporcionados, se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 33 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 %, o aproximadamente el 99 % de identidad con SEQ ID n.° 33; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 34 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %,

aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 34. En algunas modalidades, el CAR proporcionado es un CAR en el cual el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 33 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para SEQ ID n.° 33; y contiene una región V_L que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.° 69 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 69. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 162,

163 y 164, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 172, 86, 173, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 165, 166 y 164, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 172, 86 y 173, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 167, 168 y 164, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3, las cuales comprenden la secuencia de aminoácidos de los SEQ ID n.°: 172, 86 y 173, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 169, 170, 171, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 174, 89 y 175, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a

antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 169, 170, 171, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 174, 89 y 297, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:33 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:34. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:33 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:69. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 13, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 13. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 269, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %,

aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 269. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 14, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 14. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 270, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 270.

[000342] Entre los anticuerpos (por ejemplo, los fragmentos de unión al antígeno) de los informes de la autoridad competente proporcionados, están los anticuerpos humanos. En determinadas modalidades de un anticuerpo anti-GPRC5D humano que se proporcionó (por ejemplo, fragmentos de unión al antígeno), el anticuerpo humana contiene una región V_H que

comprende una porción con al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, 99% o el 100% de la secuencia de identidad en relación con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento V de cadena pesada humana de un nucleótido germinal, o una porción que tiene al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % de identidad de secuencia en relación con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento D de cadena pesada humana de un nucleótido germinal, o una porción que tenga al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % de secuencia de identidad en relación con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmentos J de cadena pesada humana de un nucleótido germinal, y contiene una región V_L que comprende una porción que tiene al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100% de secuencia de identidad en relación con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento V lambda o kappa humano de un nucleótido germinal, y una porción que tiene al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, 99% o el 100 % de identidad de secuencia en relación con una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento J kappa o lambda humano de un nucleótido germinal. En determinadas modalidades, la porción de la región V_H región corresponde a CDR-H1, CDR-H2 o CDR-H3. En determinadas modalidades, la porción de la región V_H región corresponde a la región de entramado 1 (FR1). FR2, FR3 y FR4. En determinadas

modalidades, la porción de la región V_H región corresponde a CDR-L1, CDR-L2 o CDR-L3. En determinadas modalidades, la porción de la región V_H región corresponde a FR1, FR2, FR3 y/o FR4.

[000343] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano (por ejemplo, el fragmento de unión al antígeno) contiene una CDR-H1 que tiene al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % de secuencia de identidad en relación con una secuencia de aminoácidos de la región CDR-H1 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena pesada humana de un nucleótido germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano, en algunas modalidades, contiene una CDR-H1 que tiene una secuencia que 100 % idéntica o con no más de uno, dos o tres aminoácidos de diferencia en comparación con la región CDR-H1 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena pesada humana de un nucleótido germinal.

[000344] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano (por ejemplo, el fragmento de unión al antígeno) contiene una CDR-H2 que tiene al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % de secuencia de identidad en relación con una secuencia de aminoácidos de la región CDR-H2 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena pesada humana de un nucleótido germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano, en algunas modalidades,

contiene una CDR-H2 que tiene una secuencia 100 % idéntica o con no más de uno, dos o tres aminoácidos de diferencia en comparación con la región CDR-H2 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena pesada humana de un nucleótido germinal.

[000345] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano (por ejemplo, el fragmento de unión al antígeno) contiene una CDR-H3 que tiene al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % de secuencia de identidad en relación con una secuencia de aminoácidos de la región de CDR-H3 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V, un segmento D y un segmento J. de cadena pesada humana de un nucleótido germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano, en algunas modalidades, contiene una CDR-H3 que tiene una secuencia 100 % idéntica o con no más de uno, dos o tres aminoácidos de diferencia en comparación con la región CDR-H3 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V, segmento D y segmento J de cadena pesada humana de un nucleótido germinal.

[000346] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano (por ejemplo, el fragmento de unión al antígeno) contiene una CDR-L1 que tiene al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % de secuencia de identidad en relación con una secuencia de aminoácidos de la región de CDR-L1 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un

segmento V de cadena liviana humana de un nucleótido germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano, en algunas modalidades, contiene una CDR-L1 que tiene una secuencia que 100 % idéntica o con no más de uno, dos o tres aminoácidos de diferencia en comparación con la región CDR-L1 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena liviana humana de un nucleótido germinal.

[000347] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano (por ejemplo, el fragmento de unión al antígeno) contiene una CDR-L2 que tiene al menos el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % de secuencia de identidad en relación con una secuencia de aminoácidos de la región de CDR-L2 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena liviana humana de un nucleótido germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano, En determinadas modalidades, contiene un CDR-L2 que tiene una secuencia que es 100 % idéntica o con más de una, dos o tres diferencias en aminoácido en comparación con la región CDR-L2 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V de cadena ligera humano del nucleótido de la línea germinal.

[000348] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión al antígeno, contiene un CDR-L3 que tiene al menos una identidad de secuencia del 95 %, 96

%, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % a una secuencia de aminoácidos de la región CDR-L3 dentro de una secuencia codificada por un segmento V y segmento J de cadena ligera humano del nucleótido de la línea germinal. Por ejemplo, el anticuerpo humano, En determinadas modalidades, contiene un CDR-L3 que tiene una secuencia que es 100 % idéntica o con más de una, dos o tres diferencias en aminoácido en comparación con la región CDR-L3 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V y segmento J de cadena ligera humano del nucleótido de la línea germinal.

[000349] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, fragmento de unión al antígeno, contiene una región de estructura que contiene secuencias del segmento del gen de la línea germinal humana. por ejemplo, En determinadas modalidades, el anticuerpo humano contiene una región V_H en la que la región de estructura, por ejemplo,FR1, FR2, FR3 y FR4, tiene al menos una identidad de secuencia del 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % a una región de estructura codificada por un segmento del anticuerpo de la línea germinal humana, tal como un segmento V y/o un segmento J. En determinadas modalidades, el anticuerpo humano contiene una región V_L en la que la región de estructura, por ejemplo,FR1, FR2, FR3 y FR4, tiene al menos una identidad de secuencia del 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % a una región de estructura codificada por un segmento del anticuerpo de la

línea germinal humana, tal como un segmento V y/o un segmento J. Por ejemplo, en dichas determinadas modalidades, la secuencia de la región de estructura contenida dentro de la región V_H y/o región V_L difiere por no más de 10 aminoácidos, tal como no más de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácido, comparada con la secuencia de la región de estructura codificado por un segmento del anticuerpo de la línea germinal humana.

b. Espaciador

[000350] En determinadas modalidades, el receptor recombinante, tal como un CAR que contiene un anticuerpo (por ejemplo, fragmento de unión al antígeno) que se proporciona aquí, incluye, además, un espaciador, que puede ser, o al menos incluir, una parte de una región constante de inmunoglobulina o una variante o una versión modificada de estos. En determinadas modalidades, la parte de la región constante de inmunoglobulina incluye una región bisagra, por ejemplo, una región bisagra IgG4, y/o una región CH1, CH2 o CH3 y/o Fc. En algunas modalidades, la porción o región constante es de una IgG humana, tal como IgG4 o IgG1. En algunos aspectos, la parte de la región constante funciona como una región espaciadora entre el componente de reconocimiento del antígeno, tal como un dominio de unión a antígeno (por ejemplo, scFv) y dominio transmembrana. En determinadas modalidades, la longitud del espaciador se

ajusta para optimizar la distancia de sinapsis biofísica entre la célula que expresa el CAR, tal como una célula que expresa CAR, y el objetivo del CAR, tal como una célula tumoral que expresa GPRC5D. En determinadas modalidades, el CAR es expresado por un linfocito T, y la longitud del espaciador se ajusta a la longitud que es compatible para la activación de linfocitos T o para optimizar el desempeño del linfocito T del CAR.

[000351] En determinadas modalidades, el espaciador puede ser de una longitud que proporciona un aumento en la capacidad de respuesta de la célula después de la unión del antígeno, en comparación con la ausencia del espaciador o en comparación con un espaciador alternativo de una longitud diferente (por ejemplo, más corto en longitud). En algunos ejemplos, el espaciador está en, o es de aproximadamente 12 aminoácidos de longitud o no es de más de 12 aminoácidos de longitud. En determinadas modalidades, el espaciador es de al menos 100 aminoácidos en longitud, tal como al menos 110, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, o 250 aminoácidos en longitud. Los espaciadores de ejemplo incluyen aquellos que tienen al menos aproximadamente 10 a 300 aminoácidos, aproximadamente 10 a 200 aminoácidos, aproximadamente 50 a 175 aminoácidos, aproximadamente 50 a 150 aminoácidos, aproximadamente 10 a 125 aminoácidos, aproximadamente 50 a 100 aminoácidos,

aproximadamente 100 a 300 aminoácidos, aproximadamente 100 a 250 aminoácidos, aproximadamente 125 a 250 aminoácidos, o aproximadamente 200 a 250 aminoácidos, e incluyen cualquier número entero entre los criterios de valoración de cualquiera de los rangos enumerados. En determinadas modalidades, una región del espaciador es de al menos aproximadamente 12 aminoácidos, al menos aproximadamente 119 aminoácidos o menos, al menos aproximadamente 125 aminoácidos, al menos aproximadamente 200 aminoácidos, o al menos aproximadamente 220 aminoácidos, o al menos aproximadamente 225 aminoácidos en longitud.

[000352] El determinadas modalidades, el espaciador tiene una longitud de 125 a 300 aminoácidos en longitud, 125 a 250 aminoácidos en longitud, 125 a 230 aminoácidos en longitud, 125 a 200 aminoácidos en longitud, 125 a 180 aminoácidos en longitud, 125 a 150 aminoácidos en longitud, 150 a 300 aminoácidos en longitud, 150 a 250 aminoácidos en longitud, 150 a 230 aminoácidos en longitud, 150 a 200 aminoácidos en longitud, 150 a 180 aminoácidos en longitud, 180 a 300 aminoácidos en longitud, 180 a 250 aminoácidos en longitud, 180 a 230 aminoácidos en longitud, 180 a 200 aminoácidos en longitud, 200 a 300 aminoácidos en longitud, 200 a 250 aminoácidos en longitud, 200 a 230 aminoácidos en longitud, 230 a 300 aminoácidos en longitud, 230 a 250 aminoácidos en longitud o 250 a 300 aminoácidos en longitud. En determinadas

modalidades, el espaciador es de al menos o al menos aproximadamente o es de o es de aproximadamente 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 o 229 aminoácidos en longitud, o una longitud entre cualesquiera de los anteriores.

[000353] Los espaciadores de ejemplo incluyen solamente una bisagra IgG, una bisagra IgG conectada a un dominio CH2 y CH3, o una bisagra IgG conectada al dominio CH3. En determinadas modalidades, la bisagra IgG, CH2 y/o CH3 se puede derivar en su totalidad o en parte de IgG4 o IgG2, tal como en su totalidad o en parte de IgG4 humana o IgG2 humana. En determinadas modalidades, el espaciador puede ser un polipéptido quimérico que contiene una bisagra aún más bisagras, secuencias CH2 y/o CH3 derivadas de IgG4, IgG2, y/o IgG2 y IgG4. En determinadas modalidades, la región bisagra comprende toda una región bisagra de IgG4 o una parte y/o de una región bisagra de IgG2, en donde la región bisagra de IgG4 es opcionalmente una región bisagra de IgG4 y la región bisagra de IgG2 es opcionalmente una región bisagra de IgG2; la región CH2 comprende toda la región de IgG4 CH2 o una parte y/o de una región de IgG2 CH2, en donde la región de IgG4 CH2 es opcionalmente una región de IgG4 CH2 humana y la región de IgG2 CH2 es opcionalmente una región de IgG2 CH2 humana; y/o la región de CH3 comprende toda la región de IgG4 CH3 o una parte y/o de una región de IgG2 CH3, en donde la

región de IgG4 CH3 es opcionalmente una región de IgG4 CH3 humana y la región de IgG2 CH3 es opcionalmente una región de IgG2 CH3 humana. En determinadas modalidades, la bisagra, CH2 y CH3 comprende toda una región bisagra o una parte de cada una de las regiones, CH2 y CH3 de IgG4. En determinadas modalidades, la región bisagra es quimérica y comprende una región bisagra de IgG4 humana y IgG2 humana; la región CH2 es quimérica y comprende una región CH2 de IgG4 humana e IgG2 humana; y/o la región CH3 es quimérica y comprende una región CH3 de IgG4 humana e IgG2 humana. En determinadas modalidades, el espaciador comprende una bisagra quimérica de IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada que comprende al menos un reemplazo de aminoácido en comparación con la región bisagra de IgG4 humana; una región de IgG2/4 humana quimérica CH2; y una región de IgG4 CH3 humana.

[000354] En algunas modalidades, el separador se puede derivar toda o en parte de IgG4 e/o IgG2 y puede contener mutaciones, tal como una o más mutaciones de aminoácidos individuales en uno o más dominios. En algunos ejemplos, la modificación de aminoácido es una sustitución de una prolina (P) por una serina (S) en la región bisagra de una IgG4. En determinadas modalidades, la modificación de aminoácidos es una sustitución de una glutamina (Q) para una asparagina (N) para reducir la heterogeneidad de glicosilación, tal como una mutación de N177Q en la posición 177, en la región de CH2, de

la secuencia de longitud completa de IgG4 Fc presentada en el SEQ ID n.°: 281 o un N176Q en la posición 176, en la región de CH2, de la secuencia de longitud completa de IgG2 Fc presentada en el SEQ ID n.°: 282. En determinadas modalidades, el espaciador es o comprende una bisagra quimérica de IgG4/2 a una bisagra de IgG4 modificada; una región de IgG2/4 quimérica CH2; y una región de IgG4 CH3. En determinadas modalidades, el espaciador es de aproximadamente 228 aminoácidos en longitud. En determinadas modalidades, el espaciador se presenta en el SEQ ID n.°: 17. En determinadas modalidades, el espaciador comprende la secuencia de aminoácidos

ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID N.°: 17)

[000355] En determinadas modalidades, el espaciador es codificado por un polinucleótido que se ha optimizado para la expresión del codón y/o para eliminar los sitios de empalme, tales como los sitios de empalme crípticos. En algunas modalidades, la secuencia de codificación para el espaciador comprende la secuencia de ácido nucleico que se explica en SEQ ID n.°: 74. En algunas modalidades, la secuencia de codificación para el espaciador comprende la secuencia de

ácido nucleico que se explica en SEQ ID n.°: 73. En algunas modalidades, la secuencia de codificación para el espaciador comprende la secuencia de ácido nucleico que se explica en SEQ ID n.°: 283. En algunas modalidades, la secuencia de codificación para el espaciador comprende la secuencia de ácido nucleico que se explica en SEQ ID n.°: 284.

[000356] Ejemplos adicionales de espaciadores incluyen, entre otros, los que se describen en Hudecek et al. (2013) *Clin. Cancer Res.*, 19:3153, Hudecek *et al.* (2015) *Cancer Immunol.* Res., 3(2):125-135, o la publicación de solicitud de patente internacional número WO2014031687. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos del espaciador está optimizada para reducir la heterogeneidad del ARN en la expresión. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos del espaciador está optimizada para reducir los sitios de empalme crípticos o reducir la probabilidad de un evento de empalme o en un sitio de empalme.

[000357] En determinadas modalidades, el espaciador tiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:15, y es codificado por la secuencia del polinucleótido presentada en el SEQ ID n.°:285. En determinadas modalidades, el espaciador tiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:16. En determinadas modalidades, el espaciador tiene la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:286. En determinadas modalidades, el espaciador tiene la secuencia de

aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°: 288 tal como el conector establecido en SEQ ID n.°: 287. 288, y es codificado por la secuencia del polinucleótido presentada en el SEQ ID n.°: 17, codificado por la secuencia del polinucleótido presentada en el SEQ ID n.°: 73, 74, 283 o 284 o un polinucleótido que exhibe al menos una identidad de secuencia del 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más al SEQ ID n.°: 73, 74, 283, o 284.

[000358] En determinadas modalidades, el espaciador tiene una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos una identidad de secuencia del 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más al SEQ ID n.°: 17, codificado por un polinucleótido que se ha optimizado de manera opcional para el uso de codón y/o para reducir la heterogeneidad del ARN. Los métodos para reducir la heterogeneidad del ARN, tal como eliminar un sitio donante de empalme y/o un sitio aceptor de empalme críptico, se describen a continuación, tal como en la Sección I.B.2.b. Las observaciones han demostrado que el sitio donante de empalme y/o un sitio aceptor de empalme crípticos se presentan en la región del espaciador de determinados espaciadores de inmunoglobulina cuando se presentan en un CAR. En determinadas modalidades, el espaciador en un CAR proporcionados se codifica por un polinucleótido en donde un

sitio donante de empalme y/o un sitio aceptor de empalme críptico o más se eliminan y/o se modifican para reducir la heterogeneidad del ARN transcriptor de la construcción, tal como mARN, después de la expresión en una célula. En determinadas modalidades, el espaciador se codifica por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:74 (también presentada en el SEQ ID n.°:48). En determinadas modalidades, el espaciador se codifica por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:283. En determinadas modalidades, el espaciador se codifica por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:284. En determinadas modalidades, el espaciador se codifica por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:305.

c. Dominio transmembrana y componentes de señalización intracelular

[000359] El componente de reconocimiento del antígeno en general está conectado a un componente de señalización intracelular o más componentes, tal como los componentes de señalización que imitan la activación a través de un complejo del receptor del antígeno, tal como un complejo de TCR, en el caso de un CAR, y/o señala a través de otro receptor de la superficie de la célula. Por lo tanto, En determinadas modalidades, una molécula de unión de GPRC5D (por ejemplo, fragmento de unión al anticuerpo o antígeno de esta) está conectada a un dominio transmembranas o más, tal como los que

se describen aquí y dominios de señalización intracelular que comprenden un componente intracelular humanas, tal como se describe aquí. En algunas modalidades, el dominio transmembrana se fusiona al dominio extracelular. En una modalidad, se utiliza un dominio transmembrana que naturalmente se asocia con uno de los dominios en el receptor, por ejemplo, CAR. En algunos casos, el dominio transmembrana selecciona o se modifica por sustitución de aminoácidos para evitar la unión de estos dominios a los dominios transmembrana de las mismas o diferentes proteínas de membrana de superficie para reducir al mínimo las interacciones con otros miembros del complejo de receptor.

[000360] El dominio transmembrana en algunas modalidades se deriva ya sea de una fuente sintética o de una fuente natural. Donde la fuente es natural, el dominio en algunos aspectos, se deriva de cualquier proteína transmembrana o unida a membrana. Los dominios transmembranas incluyen los derivados de (es decir, comprende al menos el dominio transmembrana de) la cadena alfa, beta o zeta del receptor del linfocito T, épsilon CD3, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, y/o CD154. Por ejemplo, el dominio transmembrana puede ser un dominio transmembrana CD28 que comprende la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°: 18, codificado por la secuenciación de ácidos nucleicos presentada en el SEQ ID

n.°: 55 o la SEQ ID N.°: 56. Alternativamente el dominio transmembrana en algunas modalidades es sintético. En algunos aspectos, el dominio transmembrana sintético comprende residuos predominantemente hidrófobos tal como leucina y valina. En algunos aspectos, un triplete de fenilalanina, triptófano y valina se encontrará en cada extremo de un dominio transmembrana sintético. En algunas modalidades, el enlace es por ligadores, espaciadores, y/o dominios transmembrana.

[000361] Entre los dominios de señalización intracelular están aquellas que imitan o se aproximan a una señal a través de un receptor de antígeno natural, una señal a través de un receptor en combinación con un receptor coestimulante, y/o una señal a través de un receptor coestimulante solo. En determinadas modalidades, un conector polipéptido u oligopéptido corto, por ejemplo, un conector de entre 2 y 10 aminoácidos en longitud, tal como un nuevo que contiene glicinas y serinas, por ejemplo, doblete de glicina-serina, está presente y forma un ligamiento entre el dominio transmembrana y el dominio de señalización intracelular del CAR.

[000362] El receptor, por ejemplo, el CAR, incluye generalmente una región de señalización intracelular que comprende al menos un componente de señalización intracelular o más componentes. En determinadas modalidades, el receptor

incluye un componente intracelular o dominio de señalización de un complejo de TCR, tal como una cadena de TCR CD3 que media entre la activación y la citotoxicidad del linfocito T, por ejemplo, la cadena zeta CD3 (Cd3-ζ). Por lo tanto, en algunos aspectos, el anticuerpo de unión al GPRC5D-de está conectado a un módulo de señalización de célula o más módulos. En algunas modalidades, los módulos de señalización de células incluyen dominio transmembrana de CD3, dominios de señalización intracelular de CD3, y/u otros dominios transmembrana de CD. En determinadas modalidades, el receptor, por ejemplo, CAR, incluye, además una parte de una molécula adicional o más moléculas, tal como el receptor γ de Fc, CD8, CD4, CD25, o CD16. Por ejemplo, en algunos aspectos, el CAR incluye una molécula quimérica entre el receptor de Fc γ o CD3-zeta (CD3-ζ) y CD8, CD4, CD25 o CD16.

[000363] En determinadas modalidades, en la ligación del CAR, el dominio citoplasmático o dominio de señalización intracelular del CAR estimula y/o activa al menos una de las funciones efectoras normales o más o respuestas de la célula inmunitaria o más, por ejemplo, el linfocito T diseñado para expresar el CAR. Por ejemplo, en algunos contextos, el CAR induce una función de una célula T tal como actividad citolítica o actividad auxiliar de T, tal como secreción de citocinas u otros factores. En algunas modalidades, una porción truncada de un dominio de señalización intracelular

de un componente de receptor de antígeno o molécula coestimulante se utiliza en lugar de una cadena inmunoestimulante intacta, por ejemplo, si transduce la señal de función efectora. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular o dominios incluyen las secuencias citoplasmáticas del receptor de linfocitos T (TCR), y en algunos aspectos también de aquellos correceptores que en el contexto natural actúan en concordancia con dicho receptor para iniciar la transducción de señal después de la involucración del receptor del antígeno y/o cualquier derivado o variante de dichas moléculas, y/o cualquier secuencia sintética que tiene la misma capacidad funcional.

[000364] En el contexto de un TCR natural, la activación completa en general requiere no sólo la señalización a través del TCR, sino también una señal coestimulante. Por consiguiente, en algunas modalidades, para promover la activación completa, también se incluye un componente para generar una señal secundaria o coestimulante en el CAR. En otras modalidades, el CAR no incluye un componente para generar una señal coestimulante. En algunos aspectos, un CAR adicional se expresa en la misma célula y proporciona el componente para generar la señal secundaria o coestimulante.

[000365] La activación de células T, en algunos aspectos, se describe como que se media por dos clases de secuencia de

señalización citoplásmica: aquellas que inician la activación primaria dependiente de antígeno a través del TCR (secuencias de señalización citoplásmica primaria), y aquellas que actúan de una manera independiente del antígeno para proporcionar una señal secundaria o coestimulante (secuencias de señalización citoplásmica secundaria). En algunos aspectos, el CAR incluye una o ambas clases de secuencias de señalización citoplasmática.

[000366] En algunos aspectos, el CAR incluye una secuencia de señalización citoplasmática primaria que regula la estimulación y/o activación primaria del complejo TCR. Las secuencias de señalización citoplásmica primaria que actúan de una manera estimulante pueden contener motivos de señalización que son conocidos como motivos de activación basada en tirosina de inmunorreceptor o ITAM. Los ejemplos de ITAM que contiene secuencias de señalización citoplasmáticas primarias incluyen aquellas derivadas de TCR o CD3 zeta, FcR gamma, CD3 gamma, CD3 delta y CD3 épsilon. En determinadas modalidades, la región de señalización intracelular en el CAR contiene un dominio de señalización citoplasmática, una parte de este o una secuencia derivada de CD3 zeta. En determinadas modalidades, el CD3 zeta comprende la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°: 20, codificado por la secuenciación de ácidos nucleicos presentada en el SEQ ID n.°: 57 o la SEQ ID N.°: 58.

[000367] En determinadas modalidades, el CAR incluye un dominio de señalización (por ejemplo, un dominio de señalización citoplasmática o intracelular) y/o una parte transmembrana de una molécula coestimuladora, como una molécula coestimuladora del linfocito T. Las moléculas coestimuladora de ejemplo incluyen CD28, 4-1BB, OX40, DAP10, y ICOS. Por ejemplo, una molécula coestimuladora se puede derivar de 4-1BB y puede comprender la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°: 19, codificado por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°: 59 o la SEQ ID N.°: 60. En algunos aspectos, el mismo CAR incluye los dos componentes estimuladores o de activación (por ejemplo, secuencia de señalización citoplasmática) y los componentes coestimuladores.

[000368] En determinadas modalidades, los componentes estimuladores o de activación se incluyen dentro de un CAR, mientras que al componente coestimulador lo proporciona otro CAR que reconoce otro antígeno. En determinadas modalidades, los CAR incluyen CAR estimuladores o activadores, y CAR coestimuladores, ambos expresados en la misma célula (consulte WO 2014/055668). En algunos aspectos, el CAR con objetivo de GPRC5D es el CAR estimulador o activador; en otros aspectos, es el CAR coestimulador. En determinadas modalidades, las células incluyen, además, CAR inhibidores (iCAR, consulte Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5(215)

(diciembre 2013), como un CAR que reconoce un antígeno que no es GPRC5D, mientras que una señal estimuladora o activadora entregada a través del CAR con objetivo de GPRC5D se disminuye o inhibe por la unión del CAR inhibidor a su ligando, por ejemplo, para reducir los efectos fuera de objetivo.

[000369] En determinadas modalidades, la región de señalización intracelular comprende una transmembrana de CD28 y el dominio de señalización conectado al dominio intracelular de CD3 (por ejemplo, Cd3-zeta). En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular comprende un CD28 quimérico y dominios coestimuladores de 4-1BB (CD137; TNFRSF9), conectados a un dominio intracelular de CD3 zeta.

[000370] En determinadas modalidades, el CAR comprende uno o más dominios coestimuladores por ejemplo, dos o más y un dominio estimulador o, activador por ejemplo, dominio de activación primaria en la parte citoplasmática. Los CAR de ejemplo incluyen componentes intracelulares de CD3-zeta, CD28, y 4-1BB.

[000371] En determinadas modalidades, las modalidades proporcionadas del CAR anti-GPRC5D contienen un dominio extracelular de unión al antígeno que contiene cualquiera de los anticuerpos anti-GPRC5D o fragmentos de unión al antígenos descritos aquí, tal como en la Sección I.1a; un

espaciador que comprende una bisagra quimérica de IgG4/2 o una bisagra de IgG4 modificada; una región de IgG2/4 CH2 quimérica; y una región de IgG4 CH3, tal como la que es de aproximadamente 228 aminoácidos en longitud, o un espaciador presentado en el SEQ ID n.°:17, tal como codificado por la secuencia de nucleótidos presentada en cualquier SEQ ID n.°: 73, 74, 283 o 284; un dominio transmembrana, tal como un dominio transmembrana para un CD28 humano; y una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización citoplasmático de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) y un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora de un linfocito T. También se proporcionan los polinucleótidos que codifican dicho receptor de antígeno quimérico. En determinadas modalidades, el dominio transmembrana es o comprende la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:18. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora del linfocito T es un dominio de señalización intracelular de un CD28 humano, 4-1BB humano o ICOS humano o una parte de la señalización de estos. En modalidades particulares, el dominio de señalización intracelular es un dominio de señalización intracelular de 4-1BB humano. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular es o comprende la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:19. En determinadas modalidades, el dominio de señalización

citoplasmática es un dominio de señalización citoplasmática de CD3-zeta humano, tal como se presenta en el SEQ ID n.°:20. En determinadas modalidades, la región de señalización intracelular comprende las secuencias presentada en el SEQ ID n.°:20 y SEQ ID n.°:19.

[000372] En determinadas modalidades, las modalidades proporcionadas de CAR anti-GPRC5D tiene una secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:289, o una secuencia de aminoácidos que es de una identidad de secuencia de al menos o aproximadamente 90 %, de o aproximadamente 91 %, de o aproximadamente 92 %, de o aproximadamente 93 %, de o aproximadamente 94 %, de o aproximadamente 95 %, de o aproximadamente 96 %, de o aproximadamente 97 %, de o aproximadamente 98 % o de o aproximadamente 99 % a la secuencia de aminoácidos presentada en el SEQ ID n.°:289. En determinadas modalidades, las modalidades proporcionadas de CAR anti-GPRC5D es una secuencia de nucleótidos codificada presentada en el SEQ ID n.°:290, o una secuencia de nucleótidos que tiene una identidad de secuencia de al menos o aproximadamente 90 %, de o aproximadamente 91 %, de o aproximadamente 92 %, de o aproximadamente 93 %, de o aproximadamente 94 %, de o aproximadamente 95 %, de o aproximadamente 96 %, de o aproximadamente 97 %, de o aproximadamente 98 % o de o aproximadamente 99 % a la secuencia presentada en cualquier SEQ ID n.°:290.

2. Características de ejemplo

[000373] En algunas de las modalidades cualesquiera proporcionadas, el CAR anti-GPRC5D y/o el dominio de unión a antígeno de anti-GPRC5D se une específicamente a GPRC5D, tal como GPRC5D en la superficie de una célula plasmática de mieloma múltiple. En cualquiera de las modalidades, un fragmento de unión al anticuerpo o antígeno, en los CAR proporcionados, que se une específicamente a GPRC5D. En determinadas modalidades la unión puede ser un GPRC5D humano, una proteína GPRC5D de rata, o una proteína GPRC5D de primate no humano (por ejemplo, mono cinomolgo). En determinadas modalidades, en el dominio de unión a antígeno del CAR anti-GPRC5D y/o anti-GPRC5D se encuentran los que se unen a la proteína GPRC5D humana. La observación de que un anticuerpo u otra molécula de unión se una a la proteína GPRC5D o se una específicamente a la proteína GPRC5D no significa necesariamente que se una a una proteína GPRC5D de cada especie. Por ejemplo, En determinadas modalidades, las características de unión a la proteína GPRC5D, tal como la capacidad de unirse específicamente a este y/o competir para la unión de este con un anticuerpo de referencia, y/o unirse con una afinidad particular o competir a un grado particular, En determinadas modalidades, se refiere a la capacidad con respecto a la proteína GPRC5D humana y es posible que el

anticuerpo no tenga esta característica con respecto a la proteína GPRC5D de otras especies, tal como el ratón.

[000374] En determinadas modalidades, los anticuerpos se unen específicamente a la proteína GPRC5D humana, tal como a un epítopo o región de la proteína GPRC5D humana, tal como la proteína BCMA humana que comprende la secuencia de aminoácidos del SEQ ID n.°:49 (Uniprot Q9NZD1), o un variante alélico o variante de empalme de estos.

[000375] En una modalidad, el alcance de la unión de un anticuerpo anti-GPRC5D o dominio de unión a antígeno o CAR a una no proteína GPRC5D no relacionada, tal como una proteína GPRC5D no humana u otra no proteína GPRC5D, es menos que a o aproximadamente al 10 % de la unión del anticuerpo o dominio de unión a antígeno o CAR a la proteína GPRC5D humana o GPRC5D ligada a la membrana humana, por ejemplo, mediante un radioinmunoensayo (RIA). En determinadas modalidades, entre los anticuerpos o dominios de unión al antígeno en los CAR proporcionados, se encuentran los anticuerpos o dominios de unión al antígeno o CAR en donde la unión de la proteína GPRC5D de ratón es menos que o al o aproximadamente 10 % de la unión del anticuerpo a la proteína GPRC5D humana. En determinadas modalidades, entre los anticuerpos o dominios de unión al antígeno en los CAR proporcionados, se encuentran los anticuerpos en donde la unión de la proteína GPRC5D del mono cinomolgo es menos que o al o aproximadamente 10 % de la

unión del anticuerpo a la proteína GPRC5D humana. En determinadas modalidades, entre los anticuerpos o dominios de unión al antígeno en los CAR proporcionados, se encuentran los anticuerpos en donde la unión de la proteína GPRC5D del mono cinomolgo y/o una proteína GPRC5D de ratón es similar a o aproximadamente la misma que la unión del anticuerpo a la proteína GPRC5D humana.

[000376] En determinadas modalidades, los anticuerpos, en los CAR proporcionados, son capaces de unir la proteína GPRC5D, tal como la proteína GPRC5D humana, con al menos una determinada afinidad, según se midió mediante una cantidad de métodos conocidos. En determinadas modalidades, la afinidad se representa por una constante de disociación de equilibrio (KD); En determinadas modalidades, la afinidad se representa por EC50.

[000377] Se conoce una variedad de ensayos para evaluar la afinidad de unión y/o determinar si la molécula de unión (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de este) según específicamente a un ligando particular (por ejemplo, un antígeno, tal como una proteína GPRC5D). Dentro del nivel de un artista no capacitado se encuentra la determinación de la afinidad de unión de una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, para un antígeno, por ejemplo, GPRC5D, tal como un GPRC5D humano o GPRC5D cinomolgo o GPRC5D de ratón, tal como usar cualquier cantidad de ensayos de unión conocidos en

la técnica. por ejemplo, En determinadas modalidades, se puede usar un instrumento BIAcore® para determinar la cinética de unión y las constantes de un complejo entre dos proteínas (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de este, y un antígeno, tal como una proteína GPRC5D), usando el análisis de resonancia de plasmón de superficie (SPR) (consulte, por ejemplo, Scatchard et al., Ann. *N.Y. Acad. Sci.* 51:660, 1949; Wilson, Science 295:2103, 2002; Wolff et al., Cancer Res. 53:2560, 1993; y Patente de EE. UU. N.° 5,283,173, 5,468,614, o el equivalente).

[000378] SPR mide los cambios en la concentración de moléculas en una superficie de sensor conforme las moléculas se unen a, o se disocian de la superficie. El cambio en la señal de SPR es directamente proporcional al cambio en la concentración de masa cerca de la superficie, permitiendo de esta manera la medición de la cinética de unión entre dos moléculas. La constante de disociación para el complejo se puede determinar al monitorizar los cambios en el índice de refracción con respecto al tiempo conforme el agente amortiguador se pasa sobre el chip. Otros ensayos adecuados para medir la unión de una proteína a otra incluyen, por ejemplo, inmunoensayos tal como análisis de inmunoabsorción enzimática (ELISA) y radioinmunoensayos (RIA), o determinación de unión por la monitorización del cambio en las propiedades espectroscópicas u ópticas de las proteínas a

través de fluorescencia, absorción UV, dicroismo circular, o resonancia magnética nuclear (RMN). Otros ensayos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, transferencia Western, Elisa, ultracentrifugación analítica, espectroscopia, citometría de flujo, secuenciación y otros métodos para la detección de polinucleótidos expresados o la unión de proteínas.

[000379] En determinadas modalidades, la molécula de unión, por ejemplo, anticuerpo o un fragmento de este o dominio de unión a antígeno de un CAR, según, tal como que se une específicamente, a un antígeno, por ejemplo, una proteína GPRC5D o un epítopo de esta, con una afinidad o K_A (es decir, un constante de asociación de equilibrio de una interacción de unión particular con las unidades de 1/M; igual al cociente dentro de la tasa [k_{on} o k_a] a afuera de la tasa [k_{off} o k_d] para esta reacción de asociación, suponiendo una interacción biomolecular) igual a o mayor que 10^5 M^{-1}. En determinadas modalidades, el anticuerpo o un fragmento de este o dominio de unión a antígeno de un CAR exhibe una afinidad de unión para el epítopo péptido con un KD (es decir, un constante de asociación de equilibrio de una interacción de unión particular con las unidades de M; igual al cociente afuera de la tasa [k_{off} o k_d] a dentro de la tasa [k_{on} o k_a] para esta reacción de asociación, suponiendo una interacción biomolecular) igual a o menor que 10^{-5} M. Por ejemplo, la constante de disociación de equilibrio KD varía

de 10^{-5} M a 10^{-13} M, tal como 10^{-7} M a 10^{-11} M, 10^{-8} M a 10^{-10} M, o 10^{-9} M a 10^{-10} M. Dentro de la tasa (constante de tasa de asociación; k_{on} o k_a; unidades de 1/Ms) y fuera de la tasa (constante de tasa de disociación; k_{off} o k_d; unidades de 1/s) se puede determinar usando cualquier método de ensayos conocidos en la técnica, por ejemplo, resonancia de plasmón de superficie (SPR).

[000380] En determinadas modalidades, la afinidad de unión (EC50) y/o la constante de disociación del anticuerpo (por ejemplo, fragmento de unión al antígeno) o dominio de unión a antígeno de un CAR a aproximadamente la proteína GPRC5D, tal como la proteína GPRC5D humana, es de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 400 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 100 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 10 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 1 nM, de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 0.1 nM, es de o de aproximadamente 0.1 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 0.1 nM a aproximadamente 400 nM, de o de aproximadamente 0.1 nM a aproximadamente 100 nM, de o de aproximadamente 0.1 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 0.1 nM a aproximadamente 10 nM, de o de aproximadamente 0.1 nM a aproximadamente 1 nM, de o de aproximadamente 0.5 nM a

aproximadamente 200 nM, de o de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 100 nM, de o de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 10 nM, de o de aproximadamente 2 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 10 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 10 nM a aproximadamente 100 nM, de o de aproximadamente 10 nM a aproximadamente 50 nM, de o de aproximadamente 50 nM a aproximadamente 500 nM, de o de aproximadamente 50 nM a aproximadamente 100 nM o de o de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 500 nM. En determinadas modalidades, la afinidad de unión (EC50) y/o la constante de disociación de equilibrio, KD, del anticuerpo a una proteína GPRC5D, tal como la proteína GPRC5D humana, es de o menos que o aproximadamente 400 nM, 300 nM, 200 nM, 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM, 11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, o 1 nM o menos. En determinadas modalidades, los anticuerpos se unen a la proteína GPRC5D, tal como la proteína GPRC5D humana, con una afinidad de unión subnanomolar, por ejemplo, con una afinidad de unión menos que aproximadamente 1 nM, tal como menos que aproximadamente 0.9 nM, aproximadamente 0.8 nM, aproximadamente 0.7 nM, aproximadamente 0.6 nM, aproximadamente 0.5 nM,

aproximadamente 0.4 nM, aproximadamente 0.3 nM, aproximadamente 0.2 nM o aproximadamente 0.1 nM o menos.

[000381] En algunas modalidades, la afinidad de unión se puede clasificar como alta afinidad o como baja afinidad. En algunos casos, la molécula de unión (por ejemplo, anticuerpo o un fragmento de este) o dominio de unión a antígeno de un CAR que exhibe afinidad de unión de baja a moderada exhibe un K_A de hasta 10^7 M^{-1}, hasta 10^6 M^{-1}, hasta 10^5 M^{-1}. En algunos casos, una molécula de unión (por ejemplo, anticuerpo o un fragmento de este) que exhibe una alta afinidad de unión a un epítopo particular interactúa con dicho epítopo con un K_A de al menos 10^7 M-1, al menos 108 M-1, al menos 10^9 M^{-1}, al menos 10^{10} M^{-1}, al menos 10^{11} M^{-1}, al menos 10^{12} M^{-1}, o al menos 10^{13} M^{-1}. En determinadas modalidades, la afinidad de unión (EC50) y/o la constante de disociación de equilibrio, KD, de la molécula de unión, por ejemplo, anticuerpo anti-GPRC5D o un fragmento de este o dominio de unión a antígeno of a CAR, a una proteína GPRC5D, es de o de aproximadamente 0,01 nM a aproximadamente 1 µM, 0.1 nM a 1 µM, 1 nM a 1 µM, 1 nM a 500 nM, 1 nM a 100 nM, 1 nM a 50 nM, 1 nM a 10 nM, 10 nM a 500 nM, 10 nM a 100 nM, 10 nM a 50 nM, 50 nM a 500 nM, 50 nM a 100 nM o 100 nM a 500 nM. En determinadas modalidades, la afinidad de unión (EC50) y/o la constante de disociación de equilibrio, KD, de la molécula de unión, por ejemplo, anticuerpo anti-GPRC5D o un fragmento de este o dominio de

unión a antígeno de un CAR, a una proteína GPRC5D, es de o aproximadamente o menos que de o aproximadamente 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM, 11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, o 1 nM o menos. El grado de afinidad de un anticuerpo particular se puede comparar con la afinidad de un anticuerpo conocido, tal como un anticuerpo de referencia.

[000382] En determinadas modalidades, la afinidad de unión de una molécula de unión, tal como un anticuerpo anti-GPRC5D o dominio de unión a antígeno de un CAR, para diferentes antígenos, por ejemplo, proteína GPRC5D de diferentes especies se pueden comparar para determinar la interreactividad de las especies. Por ejemplo, la interreactividad de las especies se pueden clasificar como de interreactividad alta o de interreactividad baja. En determinadas modalidades, la constante de disociación de equilibrio, KD, para diferentes antígenos, por ejemplo, proteína GPRC5D de diferentes especies tal como humana, mono cinomolgo o ratón, se pueden comparar para determinar la interreactividad de las especies. En determinadas modalidades, la interreactividad de las especies de un anticuerpo anti-GPRC5D o dominio de unión a antígeno de un CAR puede ser alta, por ejemplo, el anticuerpo anti-GPRC5D se une a GPRC5D humana y una variante de GPRC5D de la especie a

un grado similar, por ejemplo, el cociente de KD para GPRC5D humana y K_D para la variante de GPRC5D de la especie es o es aproximadamente 1. En determinadas modalidades, la interreactividad de la especie de un anticuerpo anti-GPRC5D o dominio de unión a antígeno de un CAR puede ser baja, por ejemplo, el anticuerpo anti-GPRC5D tiene una afinidad alta para la GPRC5D humana, pero una afinidad baja para una variante de la especie de GPRC5D, o viceversa. Por ejemplo, el cociente de K_D para la variante de la especie de GPRC5D y K_D para la GPRC5D humana es más que 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000 o más, y el anticuerpo anti-GPRC5D tiene una interreactividad de la especie baja. El grado de interreactividad de la especie se puede comparar con la interreactividad De la especie de un anticuerpo conocido, tal como un anticuerpo de referencia.

[000383] Entre los CAR proporcionados se encuentran los CAR que exhiben una actividad dependiente del antígeno o señalización, es decir, actividad de señalización que está ausente y se puede medir o en niveles de fondo en la ausencia del antígeno, por ejemplo, GPRC5D. Por lo tanto, en algunos aspectos, los CAR proporcionados no exhiben, o exhiben nomás que el fondo un nivel bajo o tolerable de la actividad de señalización tónica o actividad independiente del antígeno o señalización en ausencia del antígeno, por ejemplo, si está presente la GPRC5D. En determinadas modalidades, la célula

anti-GPRC5D proporcionada que expresa CAR exhibe la actividad o función biológica, incluida la actividad citotóxica, producción de citoquinas y la capacidad de proliferación.

[000384] En determinadas modalidades, la actividad biológica o la actividad funcional de un receptor quimérico, tal como la actividad citotóxica, se puede medir usando cualquier cantidad de métodos conocidos. La actividad se puede evaluar o determinar in vitro o in vivo. En determinadas modalidades, la actividad se puede evaluar una vez que se administren las células al sujeto (por ejemplo, ser humano). Los parámetros para evaluar incluyen la unión específica de un linfocito T natural o diseñado u otra célula inmunitaria al antígeno, por ejemplo, in vivo, por ejemplo, mediante imágenes, o ex vivo, por ejemplo, mediante ELISA o citometría de flujo. En determinadas modalidades, la capacidad de las células diseñadas para destruir las células objetivo se puede medir usando cualquier método idóneo conocido en la técnica, tal como los ensayos de citotoxicidad descritos en, por ejemplo, Kochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009), y Herman et al. J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004). En determinadas modalidades, la actividad de las células también se puede medir mediante la expresión del ensayo y/o la secreción de citocinas, tal como interleucina-2 (IL-2), interferón-gamma (IFNγ), interleucina-4 (IL-4), TNF-alfa (TNFα), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10),

interleucina-12 (IL-12), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), CD107a, y/o TGF-beta (TGFβ). Los ensayos para medir citocinas son bien conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, ELISA, tinción de citocinas intracelulares, arreglo de cuentas citométricas, RT-PCR, ELISPOT, citometría de flujo y bioensayos en los cuales las células que responden a la citocina pertinente se prueban para la capacidad de respuesta (*por* ejemplo, proliferación) en la presencia de una muestra de prueba. En algunos aspectos, la actividad biológica se mide evaluando el resultado clínico, como la reducción de la carga tumoral.

[000385] En algunos aspectos, una línea celular informante se puede emplear para monitorear la actividad independiente del antígeno y/o la señalización tónica a través de la célula anti-GPRC5D que expresa CAR. En determinadas modalidades, una línea de linfocito T, tal como una línea celular de Jurkat, contiene una molécula informante, tal como una proteína fluorescente u otra molécula detectable, tal como una proteína fluorescente roja, expresada bajo el control de los elementos regulatorios transcripcionales de Nur77 endógeno. En determinadas modalidades, la expresión del informante de Nur77 es intrínseca a la célula y depende de la señalización a través de un informante recombinante que contiene una señal de activación primaria en un linfocito T, un dominio de

señalización de un componente del receptor de linfocito T (TCR), y/o un dominio de señalización que comprende un motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM), tal como una cadena Cd3ζ. La expresión de Nur77 en general no se ve afectada por otras vías de señalización tal como la señalización de citoquinas o señalización de receptores tipo peaje (TLR), que pueden actuar de una manera extrínseca a la célula y pueden no depender de la señalización a través del receptor recombinante. Por lo tanto, solamente las células que expresan el receptor recombinante exógeno, por ejemplo, CAR anti-GPRC5D, que contiene las regiones de señalización adecuadas puede expresar Nur77 cuando se lo estimula (por ejemplo, unión del antígeno específico). En algunos casos, la expresión de Nur77 también puede mostrar una respuesta dependiente de la dosis a la cantidad de estimulación (por ejemplo, antígeno).

[000386] En determinadas modalidades, los CAR anti-GPRC5D proporcionados exhiben una expresión mejorada en la superficie de las células, tal como comparados con un CAR alternativo que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica, pero está codificado por un no sitio de empalme eliminado y/o una secuencia de nucleótidos no optimizada por codón. En determinadas modalidades, la expresión del receptor recombinante en la superficie de la célula se puede evaluar. Los métodos para determinar la expresión de receptor

recombinante en la superficie de la célula pueden incluir el uso de los anticuerpos específicos del receptor de antígeno quimérico (CAR) (por ejemplo, Brentjens et al., Sci. Transl. Med. 2013 Mar; 5(177): 177ra38), Protein L (Zheng et al., J. Transl. Med. 2012 Feb; 10:29), etiquetas de epítopo, y anticuerpos monoclonales Que se unen específicamente a un polipéptido de CAR (consulte la solicitud de patente internacional Pub. No. WO2014190273). En determinadas modalidades, la expresión del receptor recombinante en la superficie de la célula, por ejemplo, linfocito T primario, se puede evaluar, por ejemplo, mediante la citometría de flujo, usando la molécula de uniones que se pueden unir al receptor recombinante o una parte de este que se pueda detectar. En determinadas modalidades, la molécula de uniones usada para detectar la expresión del receptor recombinante un anticuerpo antiidiotípico, por ejemplo, un anticuerpo antiidiotípico agonista específico para un dominio de unión, por ejemplo, scFv, o una parte de este. En determinadas modalidades, la molécula de unión es o comprende un antígeno aislado o purificado, por ejemplo, antígeno expresado de manera recombinante.

A. Receptor de antígeno quimérico con objetivo de antígeno dual

[000387] También se proporcionan los polinucleótidos que codifican el receptor de antígeno quiméricos y/o partes, por

ejemplo, cadenas, de este. Entre los polinucleótidos proporcionados se encuentran los que codifican receptores de antígeno quiméricos que se unen con BCMA y GPRC5D (por ejemplo, fragmento de unión al antígeno) descritos aquí, tal como un receptor de antígeno quimérico que comprende un anti-BCMA scFv y un anti-GPRC5D scFv (un receptor de antígeno quimérico "de un solo pedúnculo"). Los polinucleótidos pueden incluir aquellos que abarcan nucleótidos y bases que ocurren de manera natural y/o no natural, por ejemplo, incluidos aquellos con modificaciones en el eje. Los términos "molécula de ácido nucleico", "ácido nucleico" y "polinucleótido" se pueden usar de manera intercambiable, y se refieren a un polímero de nucleótidos. Dichos polímeros de nucleótidos pueden contener nucleótidos naturales y/o no naturales, e incluyen, entre otros, ADN, ARN, y PNA. La "secuencia de ácido nucleicos" se refiere a la secuencia lineal de nucleótidos que comprenden la molécula del ácido nucleico o polinucleótido. En algunos casos, el polinucleótido puede comprender la secuencia presentada en el SEQ ID n.°:317.

[000388] En algunos casos, el polinucleótido que codifica las moléculas de unión a GPRC5D y BCMA contiene una secuencia señal que codifica una señal peptídica, en algunos casos, codificado hacia arriba de la secuenciación de ácidos nucleicos que codifica las moléculas de unión a GPRC5D y BCMA o unido en la terminal 5 de las secuencias de ácidos

nucleicos que codifican los dominios de unión al antígeno. En algunos casos, el polinucleótido que contiene secuencias de ácido nucleicos que codifica el receptor de unión a GPRC5D y BCMA, por ejemplo, receptor de antígeno quimérico (CAR), contiene una secuencia señal que codifica una señal peptídica. En algunos aspectos, la secuencia de señal puede codificar para un péptido de señal derivado de un polipéptido nativo. En otros aspectos, la secuencia de señal puede codificar para un péptido de señal heterólogo o no nativo. En algunos aspectos, la señal peptídica de ejemplo no limitante es incluyen una señal peptídica de la cadena kappa de IgG presentada en el SEQ ID n.°: 271, o codificado por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°: 272 o 273-276. En algunos aspectos, la señal peptídica de ejemplo no limitante incluye una señal peptídica de una cadena alfa de GMCSFR presentada en el SEQ ID n.°:278 y codificado por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:277. En algunos aspectos, la señal peptídica de ejemplo no limitante incluye una señal peptídica de una señal peptídica alfa de CD8 presentada en el SEQ ID n.°:279. En algunos aspectos, la señal peptídica de ejemplo no limitante incluye una señal peptídica de una señal peptídica de CD33 presentada en el SEQ ID n.°:280. En algunos casos, el polinucleótido que codifica el receptor de unión a GPRC5D y BCMA puede contener la secuencia de ácido nucleicos que codifica moléculas

adicionales, tal como un marcador sustituto u otros marcadores, o puede contener componentes adicionales, tal como promotores, elementos regulatorios y/o elementos multicistrónicos. En determinadas modalidades, la secuenciación de ácidos nucleicos que codifica el receptor de unión a GPRC5D y BCMA se puede unir operativamente a cualquiera de los componentes adicionales. En algunos casos, el anti-GPRC5D scFv y el anti-BCMA scFv están separados por una secuencia de nucleótidos que codifica un conector flexible, tal como la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:320. En algunos casos, la construcción que comprende un receptor de unión a GPRC5D y BCMA comprende, además, un dominio coestimulador de 4-1BB (SEQ ID n.°:60, que codifica SEQ ID n.°:19).

[000389] En determinadas modalidades, las células expresan un CAR que se une a los dos GPRC5D y BCMA como un agente terapéutico contra las células plasmáticas de MM. En determinadas modalidades, la construcción del polinucleótido se aparta por codón para mejorar la expresión de uno o más scFv codificados por el polinucleótido.

[000390] En determinadas modalidades, entre los CAR proporcionados aquí están los codificados por polinucleótidos que están optimizados, o contienen determinadas características para la optimización, tal como para el uso de codón, para reducir la heterogeneidad del ARN y/o modificar,

por ejemplo, aumentar o tener como resultado lotes del producto celular más consistentes, expresión, tal como la expresión de la superficie, del receptor codificado, tal como se describe en la Sección IB a continuación. Por lo tanto, también se proporcionan las células que expresan los receptores recombinantes codificados por el polinucleótidos proporcionado aquí y los usa en la terapia celular adoptiva, tal como el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la expresión de GPRC5D y/o BCMA, por ejemplo, mieloma múltiple.

[000391] También se proporcionan las células, tal como los linfocitos T, diseñados para expresar un polinucleótido que codifica un polinucleótido proporcionado, incluidos los polinucleótidos que codifican un primer y segundo scFv, y composiciones que contienen dichas células. En determinadas modalidades, las construcciones del polinucleótido se modifican según se describe en la Sección IB a continuación.

B. Polinucleótidos que codifican receptores recombinantes

[000392] También se proporcionan los polinucleótidos que codifican el receptor de antígeno quiméricos y/o partes, por ejemplo, cadenas, de este. Entre los polinucleótidos proporcionados se encuentros los que codifican el receptor de antígeno quiméricos anti-GPRC5D (por ejemplo, fragmento de unión al antígeno) descrito aquí. Los polinucleótidos pueden incluir aquellos que abarcan nucleótidos y bases que ocurren

de manera natural y/o no natural, por ejemplo, incluidos aquellos con modificaciones en el eje. Los términos "molécula de ácido nucleico", "ácido nucleico" y "polinucleótido" se pueden usar de manera intercambiable, y se refieren a un polímero de nucleótidos. Dichos polímeros de nucleótidos pueden contener nucleótidos naturales y/o no naturales, e incluyen, entre otros, ADN, ARN, y PNA. La "secuencia de ácido nucleicos" se refiere a la secuencia lineal de nucleótidos que comprenden la molécula del ácido nucleico o polinucleótido.

[000393] En algunos casos, el polinucleótido que codifica el receptor de unión a GPRC5D contiene una secuencia señal que codifica una señal peptídica, en algunos casos, codificado hacia arriba de la secuenciación de ácidos nucleicos que codifica el receptor de unión a GPRC5D o unido en la terminal 5 de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el dominio de unión a antígeno. En algunos casos, el polinucleótido que contiene secuencias de ácido nucleicos que codifica el receptor de unión a GPRC5D, por ejemplo, receptor de antígeno quimérico (CAR), contiene una secuencia señal que codifica una señal peptídica. En algunos aspectos, la secuencia de señal puede codificar para un péptido de señal derivado de un polipéptido nativo. En otros aspectos, la secuencia de señal puede codificar para un péptido de señal heterólogo o no nativo. En algunos aspectos, la señal

peptídica de ejemplo no limitante es incluyen una señal peptídica de la cadena kappa de IgG presentada en el SEQ ID n.°: 271, o codificado por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°: 272 o 273-276. En algunos aspectos, la señal peptídica de ejemplo no limitante incluye una señal peptídica de una cadena alfa de GMCSFR presentada en el SEQ ID n.°:278 y codificado por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:277. En algunos aspectos, la señal peptídica de ejemplo no limitante incluye una señal peptídica de una señal peptídica alfa de CD8 presentada en el SEQ ID n.°:279. En algunos aspectos, la señal peptídica de ejemplo no limitante incluye una señal peptídica de una señal peptídica de CD33 presentada en el SEQ ID n.°:280. En algunos casos, el polinucleótido que codifica el receptor de unión a GPRC5D puede contener una secuencia de ácido nucleico que codifica moléculas adicionales, como un marcador sustituto u otros marcadores, o puede contener componentes adicionales, como promotores, elementos reguladores y/o elementos multicistrónicos. En algunas modalidades, la secuencia de ácido nucleico que codifica el receptor de unión a GPRC5D puede estar operablemente unida a cualquiera de los componentes adicionales.

[000394] También se proporcionan aquí las construcciones de polinucleótido que codifican un primer CAR que tiene un primer dominio de unión al antígeno y un segundo CAR que

tiene un segundo dominio de unión al antígeno, incluidas las construcciones de polinucleótido que están apartadas por codón. En determinadas modalidades, el primer CAR y el segundo CAR codificado por una construcción de polinucleótido son capaces de unirse a diferentes antígenos. En determinadas modalidades, una construcción de polinucleótido codifica un primer CAR capaz de unirse a GPRC5D, tal como cualquier CAR como se describe aquí, y un segundo CAR capaz de unirse a BCMA. Los CAR de ejemplo que se unen a BCMA se describen aquí, tal como en la Sección II. En determinadas modalidades, las células expresan un CAR anti-GPRC5D y un CAR anti-BCMA como un agente terapéutico contra las células plasmáticas de MM. En determinadas modalidades, la construcción del polinucleótido se aparta por codón para mejorar la expresión de uno o más CAR codificados por el polinucleótido.

[000395] En determinadas modalidades, entre los CAR proporcionados aquí están los codificados por polinucleótidos que están optimizados, o contienen determinadas características para la optimización, tal como para el uso de codón, para reducir la heterogeneidad del ARN y/o modificar, por ejemplo, aumentar o tener como resultado lotes del producto celular más consistentes, expresión, tal como la expresión de la superficie, del receptor codificado. En algunas modalidades, los polinucleótidos que codifican las proteínas con superficie celular unida a GPRC5D son

modificados en comparación con un polinucleótido de referencia, de modo tal que se eliminen los sitios de corte y empalme ocultos o crípticos, para reducir la heterogeneidad del ARN. En determinadas modalidades, los polinucleótidos que codifican proteínas de superficie de la célula de unión a GPRC5D y BCMA están optimizados por codón, tal como para la expresión en un mamífero, por ejemplo, humano, célula, tal como en un linfocito T humano. En algunos aspectos, los polinucleótidos modificados resultan en una expresión (por ejemplo, una expresión superficial) mejorada (por ejemplo, un nivel aumentado, más uniforme o más consistente) cuando se expresan en una célula. Dichos polinucleótidos pueden utilizarse en construcciones para la generación de células de ingeniería que expresen la proteína de superficie celular codificada de unión a GPRC5D y de unión a BCMA. Por lo tanto, también se proporcionan las células que expresan los receptores recombinantes codificados por el polinucleótidos proporcionado aquí y los usa en la terapia celular adoptiva, tal como el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la expresión de GPRC5D y/o BCMA, por ejemplo, mieloma múltiple.

[000396] También se proporcionan células, como células T, diseñadas para expresar un polinucleótido que codifica un polinucleótido proporcionado, incluyendo polinucleótidos que codifican un primer y segundo CAR, y composiciones que

contienen dichas células. En determinadas modalidades, las construcciones del polinucleótido están optimizadas por codón para la expresión en una célula humana. En determinadas modalidades, un sitio donante de empalme y/o un sitio aceptor de empalme o más en una construcción de polinucleótido se modifican para reducir la heterogeneidad del ARN transcriptor de la construcción, tal como mARN, después de la expresión en una célula.

1. Polinucleótidos bicistrónicos

[000397] En algunos aspectos proporcionados se encuentran los polinucleótidos que codifican un primer receptor de antígeno quimérico capaz de la unión, tal como la unión específica, un primer antígeno y un segundo receptor de antígeno quimérico capas de la unión, tal como la unión específica, un segundo antígeno. Aquí se proporcionan los polinucleótidos que son bicistrónicos para la expresión de varios CAR, tal como un CAR anti-GPRCD y un CAR anti-BCMA. En determinadas modalidades, el polinucleótido puede contener a ácido nucleico que codifica un CAR anti-GPRC5D proporcionado aquí y un ácido nucleico que codifica un segundo CAR, tal como un CAR anti-BCMA, separado por un elemento multicistrónico para la expresión de los dos CAR en la misma célula. En algunos aspectos, los receptores de antígeno quiméricos codificados, tal como aquellos que contienen polipéptidos de unión a BCMA o polipéptidos de unión a

GPRC5D, y composiciones y artículos de fabricación y usos de ESTE, también se proporcionan y pueden ser de uso como un agente terapéutico contra las células plasmáticas de MM.

[000398] Entre los polipéptidos de unión a BCMA y polipéptidos de unión a GPRC5D se encuentran los anticuerpos, tal como los anticuerpos de cadena única (por ejemplo, fragmentos de anticuerpo de unión al antígeno), o partes de estos. En algunos ejemplos, los receptores de antígeno quiméricos contienen anticuerpos anti-BCMA o fragmentos de unión al antígenos de estos. En algunos ejemplos, los receptores de antígeno quiméricos contienen anticuerpos anti-GPRC5D o fragmentos de unión al antígenos de estos. Los polinucleótidos proporcionado se pueden incorporar en las construcciones, tal como construcciones de ácido desoxirribonucleico(ADN) o ARN, tal como aquellas que se pueden introducir en las células para la expresión de los CAR anti-BCMA y anti-GPRC5D codificados recombinantes.

[000399] En algunos aspectos proporcionado se encuentran los agentes de unión a BCMA, tal como los receptores recombinantes o receptores de antígeno quiméricos que se unen a las moléculas de BCMA y polinucleótidos que codifican proteínas de superficie de la célula de unión a BCMA, tal como los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), y células que expresan dichos receptores. Las proteínas de superficie de la célula de unión a BCMA en general contienen

anticuerpos (por ejemplo, fragmentos de anticuerpo de unión al antígeno), y/u otros péptidos de unión que se unen específicamente a BCMA, tal como las proteínas de BCMA, tal como las proteínas de BCMA humana. En algunos aspectos, los agentes se unen a una parte extracelular de BCMA.

[000400] En algunos aspectos proporcionado se encuentran los agentes de unión a GPRC5D, tal como los receptores recombinantes o receptores de antígeno quiméricos que se unen a las moléculas de GPRC5D y polinucleótidos que codifican proteínas de superficie de la célula de unión a BCMA, tal como los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), y células que expresan dichos receptores. Las proteínas con superficie celular unida a GPRC5D generalmente contiene anticuerpos (por ejemplo, fragmentos de anticuerpos unidos a antígenos), y otros péptidos unidos que se unen específicamente con GPRC5D, tales como las proteínas GPRC5D, como las proteínas GPRC5D humanas. En algunos aspectos, los agentes se unen a una porción extracelular de GPRC5D.

[000401] En determinadas modalidades, los primeros y/o segundos receptores de antígeno quiméricos incluyen un dominio de unión al antígeno o más, espaciador, un dominio transmembrana, y una región de señalización intracelular. En determinadas modalidades, la construcción del polinucleótido se aparta por codón para mejorar la expresión de uno o más CAR codificados por el polinucleótido. En determinadas

modalidades, una secuencia de nucleótidos que codifica uno o más componentes o el primer y/o segundo receptor de antígeno quimérico se ha apartado por codón. En determinadas modalidades, el apartado por codón mejora la expresión de uno o más de los receptores de antígeno quiméricos. En determinadas modalidades, el apartado por codón mejora la expresión del receptor de antígeno quimérico codificado por una secuencia de nucleótidos que es 3' relativa a la secuencia de nucleótidos que codifica el otro receptor de antígeno quimérico. En determinadas modalidades, las construcciones del polinucleótido están optimizadas por codón para la expresión en una célula humana. En determinadas modalidades, un sitio donante de empalme y/o un sitio aceptor de empalme o más en una construcción de polinucleótido se modifican para reducir la heterogeneidad del ARN transcriptor de la construcción, tal como mARN, después de la expresión en una célula.

[000402] En determinadas modalidades, por medio de la presente se proporcionan las construcciones de polinucleótidos divergentes de codones que codifican los dos CAR. En la presente se observa que la expresión de un CAR codificado por una secuencia de nucleótidos de una construcción polinucleótidos se reduce en comparación con el otro CAR codificado por una secuencia de nucleótidos de la construcción de polinucleótidos. En determinadas modalidades,

el CAR codificado por una secuencia de nucleótidos se encuentra a 3′ con respecto al otro CAR codificado se identifica como el CAR "posterior". Del mismo modo, el CAR codificado por la secuencia de nucleótidos se encuentra a 5′ con respecto al otro CAR codificado se identifica como el CAR "inicial". En determinadas modalidades, el CAR "inicial" corresponde al CAR que se expresa de forma N-terminal con respecto al otro CAR, y el CAR "posterior" corresponde al CAR que se expresa de forma C-terminal con respecto al otro CAR.

[000403] En la presente se observa que la expresión del CAR codificado por una secuencia de nucleótidos situado a 3′ (el CAR "posterior") con respecto al CAR codificado por otra secuencia de nucleótidos (el CAR "inicial") se reduce. En determinadas modalidades, se considera que la recombinación de ADN da como resultado la pérdida de la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR que se encuentra a 3′ con respecto a la secuencia de nucleótidos que codifica el otro CAR; la pérdida de expresión del CAR codificado por una secuencia de nucleótidos que se encuentra a 3′ con respecto a una secuencia de nucleótidos que codifica el otro CAR, o ambas.

[000404] En determinadas modalidades, las construcciones de polinucleótidos que se proporcionan en la presente se someten a una divergencia de codones para impedir tal pérdida, tal como la divergencia de codones de la secuencia de nucleótidos

que codifica uno de los CAR, por ejemplo, el CAR principal o el CAR posterior. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica uno de los CAR se somete a una divergencia de codones, de modo que la secuencia de nucleótidos que codifica al primer CAR no comparte más de 20 pares de bases, 15 pares de bases, 10 pares de bases o 5 pares de bases, de homología de secuencias con la secuencia de nucleótidos que codifica el segundo CAR. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR anti-GPRC5D, o los componentes de este, tales como los componentes que comprenden un scFv de unión a GPRC5D, un espaciador, un dominio de transmembrana y una región de señalización intracelular, se somete a una divergencia de codones.

[000405] Tales polinucleótidos sometidos a una divergencia de codones se pueden utilizar en construcciones para la generación de células genomanipuladas que expresan la proteína de superficie codificada de unión a GPRC5D y de unión a BCMA. Por lo tanto, también se proporcionan células que expresan los receptores recombinantes codificados por los polinucleótidos sometidos a una divergencia de codones que se proporcionan en la presente y los usos de este en la terapia celular adoptiva, como el tratamiento de las enfermedades y los trastornos asociados con la expresión de GPRC5D o BCMA, por ejemplo, el mieloma múltiple.

a. Divergencia de codones

[000406] En cualquiera de las modalidades proporcionadas, una construcción de polinucleótidos se somete a una divergencia de codones para mejorar la expresión de uno o más de los CAR codificados por el polinucleótido. Las observaciones que se proporcionan en la presente demuestran aún más que la expresión de varios CAR, por ejemplo, un CAR anti-GPRC5D y un CAR anti-BCMA, en una célula puede mejorarse mediante la divergencia de codones de una secuencia de polinucleótidos que codifica uno o más de los CAR. En la presente se descubre que la divergencia de codones de una construcción de polinucleótidos codificar dos CAR mejora expresión de una secuencia de nucleótidos que codifica un CAR que se encuentra a 3 prima (o C-terminal) con respecto a la secuencia de nucleótidos que codifica el otro CAR, por ejemplo, la divergencia de codones mejora la expresión del CAR posterior.

[000407] En determinadas modalidades, por medio de la presente se proporcionan las construcciones de polinucleótidos divergentes de codones que codifican los dos CAR. En la presente se observa que la expresión de un CAR codificado por una secuencia de nucleótidos de una construcción polinucleótidos se reduce en comparación con el otro CAR codificado por una secuencia de nucleótidos de la construcción de polinucleótidos. En particular, en la

presente se observa que el CAR codificado por una secuencia de nucleótidos situada a 3’ con respecto al CAR codificado por otra secuencia de nucleótidos se reduce.

[000408] En determinadas modalidades, se considera que la recombinación de ADN da como resultado la pérdida de toda o parte de la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR que se encuentra a 3’ con respecto a la secuencia de nucleótidos que codifica el otro CAR; la pérdida de expresión del CAR codificado por la secuencia de nucleótidos que se encuentra a 3’ con respecto a la secuencia de nucleótidos que codifica el otro CAR, o ambas. Se contempla que la recombinación de ADN provoca esta pérdida debido a la homología de las secuencias entre las secuencias de nucleótidos que codifican los dos CAR.

[000409] En determinadas modalidades, las construcciones de polinucleótidos que se proporcionan en la presente se someten a una divergencia de codones para impedir tal pérdida, tal como la divergencia de codones de la secuencia de nucleótidos que codifica uno de los CAR. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica uno de los CAR se somete a una divergencia de codones para reducir la homología entre las secuencias de nucleótidos que codifican los dos CAR. En determinadas modalidades, la reducción de la homología entre las secuencias de nucleótidos que codifican los dos CAR reduce la probabilidad de una recombinación

homóloga y la pérdida de toda o parte de la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR posterior. En determinadas modalidades, la divergencia de codones comprende la modificación de la secuencia de nucleótidos del CAR principal para evitar la pérdida de la secuencia que codifica el CAR posterior, la pérdida de expresión del CAR posterior, o ambos. En determinadas modalidades, la divergencia de codones comprende la modificación de la secuencia de nucleótidos del CAR posterior para evitar la pérdida de la secuencia que codifica el CAR posterior, la pérdida de expresión del CAR posterior, o ambos.

[000410] En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica uno de los CAR se somete a una divergencia de codones, de modo que la secuencia de nucleótidos que codifica al primer CAR no comparte más de aproximadamente 20 pares de bases, aproximadamente 15 pares de bases, aproximadamente 10 pares de bases o aproximadamente 5 pares de bases, de homología de secuencias con la secuencia de nucleótidos que codifica el segundo CAR. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica uno de los CAR se somete a una divergencia de codones, de modo que las secuencias de nucleótidos que codifican los dos CAR no comparten más de aproximadamente 20, no más de aproximadamente 15, no más de aproximadamente 10, o no más de aproximadamente 5 bases idénticas consecutivas en cualquier

secuencia que se encuentre dentro de las secuencias de nucleótidos que codifican los dos CAR.

[000411] En determinadas modalidades, las secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de los componentes siguientes de CAR se someten a una divergencia de codones: (a) un dominio de unión a antígeno; (b) un espaciador; (c) un dominio de transmembrana; (d) una región de señalización intracelular. En determinadas modalidades, las secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de los componentes (b) a (d) se someten a una divergencia de codones, lo que da lugar a que uno o más componentes del primer CAR tengan una secuencia de nucleótidos diferente a la del mismo componente del segundo CAR. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica uno o más de los componentes (b) a (d) en el primer CAR es diferente de la secuencia de nucleótidos que codifica el mismo componente en el segundo CAR, pero la secuencia de nucleótidos que codifica el componente en el primer CAR y la secuencia de nucleótidos que codifica el mismo componente en el segundo CAR codifican la misma secuencia de aminoácidos.

[000412] En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica un espaciador en un primer CAR proviene del SEQ ID n.°: 305 y la secuencia de nucleótidos que codifica el mismo espaciador en un segundo CAR proviene del SEQ ID n.°: 74. En determinadas modalidades, el

espaciador proviene de la secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°: 17. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica un dominio de transmembrana en un primer CAR proviene del SEQ ID n.°: 307 y la secuencia de nucleótidos que codifica el mismo dominio de transmembrana en un segundo CAR proviene del SEQ ID n.°: 56. En determinadas modalidades, el dominio de transmembrana proviene de la secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°: 18. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica un endodominio de 4-1BB de la región de señalización intracelular en un primer CAR proviene del SEQ ID n.°: 308 y la secuencia de nucleótidos que codifica el mismo endodominio de 4-1BB de la región de señalización intracelular en un segundo CAR proviene del SEQ ID n.°: 60. En determinadas modalidades, el endodominio de 4-1BB proviene de la secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°: 19. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica un endodominio de CD3zeta de la región de señalización intracelular en un primer CAR proviene del SEQ ID n.°: 309 y la secuencia de nucleótidos que codifica el mismo endodominio de CD3zeta de la región de señalización intracelular en un segundo CAR proviene del SEQ ID n.°: 58. En determinadas modalidades, el endodominio de CD3zeta

proviene de la secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°: 20.

[000413] En determinadas modalidades, el dominio de unión a antígeno del primer CAR se une a un antígeno diferente de aquel del dominio de unión a antígeno del segundo CAR. En determinadas modalidades, el dominio de unión a antígeno del primer o segundo CAR se somete a una divergencia de codones en comparación con su secuencia original. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos sometida a una divergencia de codones que codifica el dominio de unión de antígeno del primer o segundo CAR proviene del SEQ ID n.°: 311 y la secuencia de nucleótidos original que codifica el mismo dominio de unión a antígeno proviene del SEQ ID n.°: 264. En determinadas modalidades, el dominio de unión a antígeno del primer o segundo CAR proviene del SEQ ID n.°: 8. En determinadas modalidades, el dominio de unión a antígeno del otro primer o segundo CAR no se somete a una divergencia de codones en comparación con su secuencia original. En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica el dominio de unión a antígeno del otro primer o segundo CAR proviene del SEQ ID n.°: 310. En determinadas modalidades, el dominio de unión a antígeno del otro primer o segundo CAR proviene del SEQ ID n.°: 241.

[000414] En determinadas modalidades, la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR anti-GPRC5D, o los

componentes de este, tales como los componentes que comprenden un scFv de unión a GPRC5D, un espaciador, un dominio de transmembrana y una región de señalización intracelular, se somete a una divergencia de codones. Tales polinucleótidos sometidos a una divergencia de codones se pueden utilizar en construcciones para la generación de células genomanipuladas que expresan la proteína de superficie codificada de unión a GPRC5D y de unión a BCMA. Por lo tanto, también se proporcionan células que expresan los receptores recombinantes codificados por los polinucleótidos sometidos a una divergencia de codones que se proporcionan en la presente y los usos de este en la terapia celular adoptiva, como el tratamiento de las enfermedades y los trastornos asociados con la expresión de GPRC5D o BCMA, por ejemplo, el mieloma múltiple.

b. Elementos multicistrónicos

[000415] En cualquiera de las modalidades proporcionadas, el polinucleótido también contiene un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) entre la primera y la segunda secuencias de ácidos nucleicos para ofrecer productos de traducción de la primera y la segunda secuencias de ácidos nucleicos después de la traducción. por ejemplo, en determinadas modalidades, las unidades de transcripción pueden diseñarse como unidades bicistrónicas que contienen un IRES, lo que permite la coexpresión de productos génicos (por ejemplo, la

codificación de un primer y segundo receptor quimérico) mediante un mensaje de un promotor único. por ejemplo, En determinadas modalidades, el vector o la construcción puede contener un ácido nucleico que codifica un receptor anti-GPRC5D (por ejemplo, un CAR anti-GPRC5D) proporcionado en la presente y un ácido nucleico que codifica un receptor anti-BCMA (por ejemplo, un CAR anti-BCMA), separado por un IRES, con la regulación de un promotor único.

[000416] Opcionalmente, en cualquiera de las modalidades proporcionadas, el polinucleótido contiene una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un péptido de unión entre la primera y segunda secuencias de ácidos nucleicos, donde el péptido de unión separa los productos de traducción de la primera y la segunda secuencias de ácidos nucleicos durante o después de la traducción. En algunos aspectos, el péptido de enlace contiene un péptido de autoescisión, o un péptido que causa la omisión ribosomal, opcionalmente un péptido T2A. En determinadas modalidades, un promotor único puede dirigir la expresión de un ARN que contiene, en un solo marco de lectura abierto (ORF), dos o tres genes (por ejemplo, que codifican una primera y segunda moléculas de unión, por ejemplo, un receptor recombinante de anticuerpos) separados entre sí por secuencias que codifican un péptido de auto-escisión (por ejemplo, secuencias de escisión 2A) o un sitio de reconocimiento de proteasa (por ejemplo, furina). Por lo

tanto, el ORF codifica un solo polipéptido que, ya sea durante (en el caso del T2A) o después de la traducción, se separa en las proteínas individuales. En algunos casos, el péptido, como el T2A, puede hacer que el ribosoma omita (omisión ribosomal) la síntesis de un enlace peptídico en el terminal C de un elemento 2A, lo que conduce a la separación entre el final de la secuencia 2A y el siguiente péptido aguas abajo (consulte, por ejemplo, de Felipe. Vacunas genéticas y tratamiento. 2:13 (2004) y de Felipe et al. Traffic 5:616-626 (2004)). Muchos elementos 2A son conocidos. Las secuencias 2A que pueden utilizarse en los métodos y polinucleótidos que se revelan en la presente pueden ser, entre otras, secuencias 2A del virus de la fiebre aftosa (F2A, por ejemplo, SEQ ID n.°: 42 o 43), virus de Thosea asigna A (E2A, por ejemplo, SEQ ID n.°: 40 o 41), virus de Thosea asigna (T2A, por ejemplo, SEQ ID n.°: 35, 36 o 37), y teschovirus porcino-1 (P2A, por ejemplo, SEQ ID n.°: 38 o 39) como se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos de América No. 20070116690.

[000417] En cualquiera de las construcciones de polinucleótidos proporcionadas, una primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica un primer CAR y una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica un segundo CAR están separadas por una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un elemento de omisión ribosomal, tal como un T2A.

Por lo tanto, ya sea durante o después de la traducción, el primer receptor de antígeno quimérico y el segundo receptor de antígeno quimérico se dividen en proteínas separadas. En cualquiera de las construcciones de polinucleótidos proporcionadas, la secuencia de nucleótidos que codifica el T2A puede someterse a una divergencia de codones.

2. Características de los polinucleótidos

a. Optimización de codones

[000418] En determinadas modalidades, los polinucleótidos son modificados por la optimización de codones para su expresión en los seres humanos. En algunos aspectos, la optimización de codones puede considerarse antes o después de los pasos para la identificación del sitio de empalme o la eliminación del sitio de empalme, o en cada uno de los pasos iterativos para reducir la heterogeneidad del ARN. La optimización de codones generalmente implica equilibrar los porcentajes de codones seleccionados con la abundancia (como la abundancia publicada) de los ARN de transferencia humanos, por ejemplo, para que ninguno esté sobrecargado o limitado. En algunos casos, este equilibrio es necesario o útil porque la mayoría de los aminoácidos están codificados por más de un codón, y el uso de codones generalmente varía de un organismo a otro. Las diferencias en el uso de codones entre genes o ácidos nucleicos transfectados o trasducidos y células huésped pueden tener efectos sobre la expresión de proteínas

de la molécula de ácido nucleico. La Tabla 2 que se encuentra a continuación constituye una tabla ejemplar de las frecuencias de uso humano de codones. En determinadas modalidades, para generar secuencias de ácidos nucleicos optimizadas para los codones, se eligen codones para seleccionar aquellos codones que están en equilibrio con la frecuencia de uso humano. La redundancia de los codones para los aminoácidos es tal que diferentes codones codifican un único aminoácido, tal como se representa en la Tabla 2. Al seleccionar un codón para su sustitución, se requiere que la mutación resultante sea una mutación silenciosa, de manera que el cambio de codón no afecte la secuencia de aminoácidos. Por lo general, el último nucleótido del codón (por ejemplo, en la tercera posición) puede no sufrir modificaciones ni afectar la secuencia de aminoácidos.

Tabla 2. Frecuencia de uso humano de codones

Condón humano	aminoácido	frec./ 1000	cantidad		Condón humano	aminoácido	frec./ 1000	cantidad
TTT	F	17.6	714298		TCT	S	15.2	618711
TTC	F	20.3	824692		TCC	S	17.7	718892
TTA	L	7.7	311881		TCA	S	12.2	496448
TTG	L	12.9	525688		TCG	S	4.4	179419
CTT	L	13.2	536515		CCT	P	17.5	713233
CTC	L	19.6	796638		CCC	P	19.8	804620
CTA	L	7.2	290751		CCA	P	16.9	688038
CTG	L	39.6	1611801		CCG	P	6.9	281570

Tabla 2. Frecuencia de uso humano de codones

Condón humano	aminoácido	frec./ 1000	cantidad		Condón humano	aminoácido	frec./ 1000	cantidad
ATT	I	16	650473		ACT	T	13.1	533609
ATC	I	20.8	846466		ACC	T	18.9	768147
ATA	I	7.5	304565		ACA	T	15.1	614523
ATG	M	22	896005		ACG	T	6.1	246105
GTT	V	11	448607		GCT	A	18.4	750096
GTC	V	14.5	588138		GCC	A	27.7	1127679
GTA	V	7.1	287712		GCA	A	15.8	643471
GTG	V	28.1	1143534		GCG	A	7.4	299495
TAT	Y	12.2	495699		TGT	C	10.6	430311
TAC	Y	15.3	622407		TGC	C	12.6	513028
TAA	*	1	40285		TGA	*	1.6	63237
TAG	*	0.8	32109		TGG	W	13.2	535595
CAT	H	10.9	441711		CGT	R	4.5	184609
CAC	H	15.1	613713		CGC	R	10.4	423516
CAA	Q	12.3	501911		CGA	R	6.2	250760
CAG	Q	34.2	1391973		CGG	R	11.4	464485
AAT	N	17	689701		AGT	S	12.1	493429
AAC	N	19.1	776603		AGC	S	19.5	791383
AAA	K	24.4	993621		AGA	R	12.2	494682
AAG	K	31.9	1295568		AGG	R	12	486463
GAT	D	21.8	885429		GGT	G	10.8	437126
GAC	D	25.1	1020595		GGC	G	22.2	903565
GAA	E	29	1177632		GGA	G	16.5	669873
GAG	E	39.6	1609975		GGG	G	16.5	669768

[000419] Por ejemplo, los codones TCT, TCC, TCA, TCG, AGT y AGC codifican todos los códigos de la serina (cabe destacar que T en el ADN equivale a U en el ARN). A partir de una frecuencia de uso humano de codones, tal como se estableció en la Tabla 2, las frecuencias de uso correspondientes de estos codones son 15,2; 17,7; 12,2; 4,4; 12,1 y 19,5, respectivamente. Dado que TCG corresponde al 4,4 %, si este codón se usara con frecuencia en una síntesis genética, el ARNt de este codón sería limitante. En la optimización de codones, el objetivo es equilibrar el uso de cada codón con la frecuencia normal de uso en la especie animal en la que se pretende expresar el transgén.

b. Sitios de empalme

[000420] Por medio de la presente se proporcionan los polinucleótidos en los que se identificaron uno o más posibles sitios donantes de empalmes o aceptores de empalmes y se modificó la secuencia de ácidos nucleicos en o cerca de uno o más de los sitios donantes de empalmes identificados. En determinadas modalidades, las secuencias de ácido nucleico modificadas resultantes se sintetizan y utilizan para la transducción celular con el fin de probar su empalme, tal como lo indica la heterogeneidad del ARN.

[000421] Por medio de la presente también se proporcionan los polinucleótidos, tales como los que codifican cualquiera de los anticuerpos, receptores (tales como los receptores de

antígenos, como los receptores de antígenos quiméricos) o las proteínas de unión específicas a GPRC5D o BCMA que se proporcionan en la presente, que se modifican o se modificaron para reducir la heterogeneidad o contienen una o más secuencias de ácido nucleico observadas en la presente (por ejemplo, mediante los métodos de optimización) para mejorar las características de los polipéptidos, como los CAR, en comparación con aquellos que contienen secuencias distintas de referencia o que no se modificaron. Entre estas características se encuentran las mejoras en la heterogeneidad del ARN, como la que resulta de la presencia de uno o más sitios de empalme, tal como uno o más sitios de empalme crípticos, o una mejor expresión o expresión superficial de la proteína codificada, tal como el aumento de los niveles, la uniformidad o la consistencia de la expresión entre células o diferentes composiciones celulares terapéuticas manipuladas para expresar los polipéptidos.

[000422] Los sitios de empalme pueden identificarse en secuencias de polinucleótidos cosechando ARN de las células de expresión, al amplificar por reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y resolver por electroforesis en gel de agarosa para determinar la heterogeneidad del ARN, en comparación con la secuencia inicial. En algunos casos, las secuencias mejoradas se pueden volver a enviar al proveedor de síntesis génica para una

posterior optimización de codones y la eliminación del sitio de empalme, seguido de una evaluación, modificación, síntesis y prueba del sitio de empalme críptico, hasta que el ARN en el gel de agarosa presente una heterogeneidad mínima del ARN.

[000423] También se proporcionan polinucleótidos que se modificaron para eliminar los sitios de empalme, como los sitios de empalme crípticos. Por lo general, las secuencias genómicas de ácido nucleico que se encuentran en la naturaleza, en una célula de mamífero, se someten a una preparación cotranscripcional o inmediatamente después de la transcripción, donde un precursor activo, el ácido ribonucleico mensajero (ARNm-pre), transcrito a partir de una secuencia genómica de ácido desoxirribonucleico (ADN), se edita en algunos casos mediante el empalme para eliminar los intrones, seguido de la ligación de los exones en las células eucariotas. Las secuencias consensuales de los sitios de empalme son conocidas, pero, en algunos aspectos, la información específica de los nucleótidos que define un sitio de empalme puede ser compleja y puede no ser fácilmente aparente en virtud de los métodos disponibles. Los sitios de empalme crípticos son sitios de empalme que no se prevén en función de las secuencias consensuales normalizadas y que se activan de manera variable. Por lo tanto, el empalme variable de ARNm-pre en los sitios de empalme crípticos conduce a la

heterogeneidad en los productos de ARNm transcritos al expresarse en las células eucariotas.

[000424] Los polinucleótidos generados para la expresión de transgenes suelen construirse a partir de secuencias de ácidos nucleicos, tales como el ADN complementario (ADNc), o porciones de este, que no contienen intrones. Por lo tanto, no se espera que se produzca el empalme de tales secuencias. Sin embargo, la presencia de sitios de empalme crípticos dentro de la secuencia de ADNc puede llevar a reacciones de empalme involuntarias o no deseadas y a la heterogeneidad en el ARNm transcrito. Tal heterogeneidad da como resultado la traducción de productos proteínicos no deseados, tales como productos proteínicos truncados con secuencias variables de aminoácidos que exhiben una expresión o actividad modificada.

[000425] En determinadas modalidades, la eliminación de los sitios de empalme, tales como los sitios de empalme crípticos, puede mejorar u optimizar la expresión de un producto transgénico, tal como un polipéptido traducido del transgén, como un polipéptido de CAR anti-GPRC5D El empalme en los sitios de empalme crípticos de un transgén codificado, tal como una molécula codificada de CAR GPRC5D, puede conducir a una reducción de la expresión de proteínas, por ejemplo, expresión en la superficie de las células, o una reducción de la función, por ejemplo, una reducción de la señalización intracelular. Por medio de la presente se

proporcionan polinucleótidos que codifican proteínas de CAR anti-GPRC5D que se optimizaron para reducir o eliminar los sitios de empalme crípticos. Por medio de la presente también se proporcionan polinucleótidos que codifican proteínas de CAR anti-GPRC5D que se optimizaron para la expresión de los codones o en las que hay una o más secuencias, tales como una identificada mediante los métodos u observaciones que se proporcionan en la presente con respecto a los sitios de empalme, o en las que no hay un sitio de empalme identificado, tal como cualquiera de los sitios de empalme que se identifican en la presente. De los polinucleótidos que se proporcionan, se encuentran los que presentan un cierto grado de heterogeneidad del ARN o formas de empalme cuando se expresan en determinadas condiciones o se introducen en un tipo celular específico, tal como un linfocito T humano, por ejemplo, un linfocito T humano primario, y células y composiciones químicas y artículos de fabricación que contienen tales polipéptidos o exhiben tales propiedades. En determinadas modalidades, la heterogeneidad del ARN transcrito se reduce en más del 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más en comparación con un polinucleótido que no se modificó para eliminar los sitios de empalme crípticos o mediante optimización de codones. En determinadas modalidades, los polinucleótidos proporcionados que codifican

un CAR anti-GPRC5D exhiben homogeneidad del ARN transcrito que es al menos del 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% o superior.

[000426] En determinadas modalidades, la eliminación de los sitios de empalme, tales como los sitios de empalme crípticos, puede mejorar u optimizar la expresión de un producto transgénico, tal como un polipéptido traducido del transgén, como un polipéptido de CAR anti- BCMA El empalme en los sitios de empalme crípticos de un transgén codificado, tal como una molécula codificada de CAR BCMA, puede conducir a una reducción de la expresión de proteínas, por ejemplo, expresión en la superficie de las células, o una reducción de la función, por ejemplo, una reducción de la señalización intracelular. Se proporcionan aquí polinucleótidos que codifican proteínas CAR anti-BCMA que han sido optimizados para reducir o eliminar los sitios de empalme crípticos. Por medio de la presente también se proporcionan polinucleótidos que codifican proteínas de CAR anti- BCMA que se optimizaron para la expresión de los codones o en las que hay una o más secuencias, tales como una identificada mediante los métodos u observaciones que se proporcionan en la presente con respecto a los sitios de empalme, o en las que no hay un sitio de empalme identificado, tal como cualquiera de los sitios de empalme que se identifican en la presente. De los polinucleótidos que se proporcionan, se encuentran los que presentan un cierto grado de heterogeneidad del ARN o formas

de empalme cuando se expresan en determinadas condiciones o se introducen en un tipo celular específico, tal como un linfocito T humano, por ejemplo, un linfocito T humano primario, y células y composiciones químicas y artículos de fabricación que contienen tales polipéptidos o exhiben tales propiedades. En determinadas modalidades, la heterogeneidad del ARN transcrito se reduce en más del 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o más en comparación con un polinucleótido que no se modificó para eliminar los sitios de empalme crípticos o mediante optimización de codones. En determinadas modalidades, los polinucleótidos proporcionados que codifican un CAR anti-BCMA exhiben homogeneidad del ARN transcrito que es al menos del 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % o superior.

[000427] La heterogeneidad del ARN puede determinarse mediante cualquiera de los métodos que se proporcionan en la presente, descritos o conocidos. En determinadas modalidades, la heterogeneidad del ARN de un ácido nucleico transcrito se determina amplificando el ácido nucleico transcrito, como, por ejemplo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), seguida de la detección de una o más diferencias, tales como diferencias de tamaño, en uno o más productos amplificados. En determinadas modalidades, la heterogeneidad del ARN se determina según el número de productos amplificados de diferente tamaño, o la

proporción de varios productos amplificados de diferente tamaño. En determinadas modalidades, el ARN, como el ARN total o el ARN poliadenilado citoplásmico, se cosecha de las células, expresando el transgén que debe optimizarse, y se amplifica mediante la reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa (RT-PCR) utilizando un cebador específico para la región no traducida de 5’ (UTR 5’), que en algunos casos corresponde a una porción de la secuencia promotora en el vector de expresión, localizado aguas arriba del transgén en el ARN transcrito, y un cebador específico para la región no traducida 3’ (UTR 3’), localizada aguas abajo del transgén expresado en la secuencia de ARN transcrito, o un cebador específico para una secuencia dentro del transgén. En determinadas modalidades, se emplean al menos un cebador complementario para una secuencia en la UTR 5’ y al menos un cebador complementario para una secuencia en la UTR 3’ para amplificar el transgén. El especialista puede resolver el ARN, tal como el ARN mensajero, y analizar la heterogeneidad de este con varios métodos. Los métodos pueden ser, entre otros, la electroforesis en gel de agarosa, la electroforesis capilar basada en chip, la centrifugación analítica, el fraccionamiento de flujo de campo y la cromatografía, como la cromatografía de exclusión por tamaño o la cromatografía líquida.

[000428] En algunos aspectos, la presencia de posibles sitios de empalme crípticos (sitios donantes o aceptores de empalmes que se encuentran en una construcción, como una construcción del transgén, puede resultar en heterogeneidad del ARN de la construcción después de la expresión en una célula. En determinadas modalidades, se identifican uno o más sitios de empalme posibles que pueden encontrarse en la construcción del transgén, que no se desean o que se pueden crear en una construcción del transgén a partir de varias secuencias subyacentes, siguiendo la optimización de codones de una construcción o mediante la mutación o el error en la transcripción. En algunos aspectos de las modalidades proporcionadas, los sitios donantes de empalmes y los sitios aceptores de empalmes se identifican de forma independiente. En determinadas modalidades, los sitios donantes o aceptores de empalmes son canónicos, no canónicos, o crípticos.

[000429] En determinadas modalidades, se identifican o modifican uno o más posibles sitios de empalme (por ejemplo, sitios donantes o aceptores de empalme canónicos, no canónicos, crípticos o de ramificación) en un polinucleótido, como un polinucleótido que codifica un transgén, tal como un receptor recombinante, que puede presentar heterogeneidad de ARN. También se proporcionan polipéptidos que tienen un número reducido de tales sitios de empalme, en comparación con dichos polinucleótidos de referencia.

[000430] En algunos aspectos, la identificación de uno o más sitios de empalme en una secuencia de ácidos nucleicos es un proceso iterativo. En determinadas modalidades, los sitios de empalme pueden identificarse con un sitio de empalme o una herramienta de predicción de optimización de codones, por ejemplo, al enviar la secuencia inicial o de referencia que codifica el transgén, tal como un receptor de unión a GPRC5D o BCMA, por ejemplo, CAR anti-GPRC5D o anti-BCMA, a una base de datos, a un proveedor de síntesis génica o a otra fuente capaz de comparar informática o algorítmicamente la secuencia inicial o de referencia para identificar o predecir los sitios de empalme, o bien, para la optimización de codones o la eliminación del sitio de empalme. En determinadas modalidades, después de modificar la secuencia para la optimización de codones o la eliminación del sitio de empalme, se lleva a cabo una o más evaluaciones adicionales de una secuencia, como una secuencia de ácidos nucleicos modificada, para evaluar mejor la eliminación del sitio de empalme, tal como un sitio de empalme crípticos, utilizando una o más herramientas de predicción de sitios de empalme o de empalme adicional(es).

[000431] En algunos aspectos, la heterogeneidad del ARN puede ser el resultado de la actividad del empalmosoma presente en una célula eucariota. En algunos aspectos, el empalme se suele llevar a cabo en una serie de reacciones

catalizadas por el empalmosoma. Las secuencias consensuales de los sitios de empalme son conocidas, pero, en algunos aspectos, la información específica de los nucleótidos que define un sitio de empalme puede ser compleja y puede no ser fácilmente aparente en virtud de los métodos disponibles. Los sitios de empalme crípticos son sitios de empalme que no se prevén en función de las secuencias consensuales normalizadas y que se activan de manera variable. Por lo tanto, el empalme variable del pre-ARNm en sitios de empalme crípticos conduce a la heterogeneidad de los productos de ARNm transcritos después de la expresión en las células eucariotas. En algunos casos, dentro de los intrones empalmosómicos, se requiere un sitio donante (por lo general, en el extremo de 5′ del intrón), un sitio de ramificación (cerca del extremo de 3′ del intrón) y un sitio aceptor (en el extremo de 3′ del intrón) para un evento de empalme. El sitio donante del empalme puede incluir una secuencia GU en el extremo de 5′ del intrón, con una región grande menos conservada. El sitio aceptor de empalmes en el extremo de 3′ del intrón puede terminar con una secuencia AG.

[000432] En determinadas modalidades, los sitios de empalme, incluidos los posibles sitios de empalme crípticos, pueden identificarse al comparar secuencias con secuencias de sitios de empalme conocidas, como las que se encuentran en una base de datos de secuencias. En determinadas modalidades, los

sitios de empalme pueden identificarse por computadores mediante la presentación de secuencias de nucleótidos para el análisis mediante herramientas de predicción de empalmes, como el Human Splice Finder (Desmet et al., Nucl. Acids Res. 37(9):e67 (2009)), una herramienta de predicción de sitios de empalme de redes neuronales, NNSplice (Reese et al., J. Comput. Biol., 4(4):311 (1997)), GeneSplicer (Pertea et al., Nucleic Acids Res. 2001 29(5): 1185–1190) o NetUTR (Eden y Brunak, Nucleic Acids Res. 32(3):1131 (2004)), que identifica los posibles sitios de empalme y la probabilidad de un evento de empalme en dichos sitios. Otras herramientas de predicción de empalmes pueden ser RegRNA, ESEfinder y el predictor de empalmes del Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT). Las herramientas de predicción de sitios de empalme como GeneSplicer se alimentaron o probaron con éxito en bases de datos de diferentes especies, tales como la humana, Drosophila melanogaster, Plasmodium falciparum, Arabidopsis thaliana y arroz. En determinadas modalidades, se pueden adaptar diferentes herramientas de predicción para distintos grados en diferentes bases de datos o para diferentes especies. En determinadas modalidades, se seleccionan una o más herramientas de predicción en función de su utilidad en determinadas bases de datos o para determinadas especies. Consulte, por ejemplo, Saxonov et al. (2000) Nucleic Acids Res., 28, 185-190.

[000433] En determinadas modalidades, se utilizan una o más herramientas de predicción de sitios de empalme para determinar los posibles sitios donantes o aceptores de empalme. En determinadas modalidades, se pueden utilizar herramientas de predicción de sitios de empalme que se pueden ejecutar localmente; que se pueden volver a alimentar con un conjunto de datos en el sitio del usuario; que pueden utilizar bases de datos de especies particulares (como la humana); que se pueden compilar para varias plataformas; que permiten predicciones en tiempo real para la selección de secuencias; o que sean un software de código abierto certificado por el modelo de interconexión de sistemas abiertos (OSI), de manera que se puedan modificar las herramientas o los complementos específicos. Entre las herramientas que se pueden utilizar pueden ser NNSplice, GeneSplicer o ambos.

[000434] En algunos aspectos, las herramientas de predicción de sitios de empalme pueden utilizarse para identificar una lista de posibles sitios donantes o aceptores de empalme en una secuencia, como una secuencia de polinucleótidos que contiene secuencias de transgenes. En algunos aspectos, las herramientas de predicción también pueden generar uno o más puntajes de predicción para una o más secuencias en el polinucleótido, que pueden indicar las probabilidades de que

una o más secuencias sean una secuencia de sitio de empalme donante o aceptor.

[000435] En determinadas modalidades, el puntaje de predicción de un sitio de empalme en particular se compara con un puntaje de umbral o puntuación de referencia para determinar o identificar un sitio de empalme en particular que sea candidato para la eliminación o remoción. Por ejemplo, En determinadas modalidades, el sitio de empalme predicho se identifica como un posible sitio de empalme cuando el puntaje de la predicción es mayor o igual que el puntaje umbral o el puntaje de referencia. En algunos aspectos, las consideraciones para eliminar un sitio de empalme en particular incluyen el puntaje de predicción en comparación con un puntaje de referencia o un puntaje umbral; y si un sitio de empalme en particular es deseado o intencional (por ejemplo, cuando el evento de empalme es más ventajoso o se requiere para regular la transcripción o traducción). En algunos aspectos, la probabilidad de que la variante de empalme resultante pierda la función deseada o tenga una función comprometida también se puede considerar al determinar los sitios de donantes o aceptores particulares para su eliminación o remoción. En algunos aspectos, los posibles sitios donantes o aceptores de empalme exhiben un puntaje de 0.7, 0.75, 0.8, 0.85, 0.9, 0.95 o 1.0 (por ejemplo, en una escala con un máximo de 1.0) de un evento de

empalme o de la probabilidad de un evento de empalme, y el sitio puede ser un candidato para la eliminación o remoción del sitio de empalme. En algunos aspectos, el puntaje, por ejemplo, utilizado por GeneSplicer, en el sitio de uno o más posibles sitios donantes o aceptores de empalme se basa en la diferencia entre el puntaje de probabilidades de registro arrojado para esa secuencia por el modelo de Markov verdadero y el puntaje calculado por el modelo de Markov falso. En determinadas modalidades, los sitios donantes de empalmes y los sitios aceptores de empalmes se evalúan de forma independiente o individual. En determinadas modalidades, los sitios donantes de empalmes y los sitios aceptores de empalmes se evalúan como pares de donantes/aceptores de empalmes.

[000436] En determinadas modalidades, se eliminan uno o más sitios donantes o aceptores de empalme, tales como los posibles sitios donantes o aceptores de empalme que pueden estar involucrados en un evento de empalme críptico que no es deseado o que da como resultado la heterogeneidad de ARN no deseada. En determinadas modalidades, la eliminación de uno o más sitios de empalme implica la modificación de uno o más nucleótidos (por ejemplo, por sustitución o reemplazo) que está en, que contiene o está cerca de los sitios donantes o aceptores de empalme que son candidatos para la eliminación. En algunos aspectos, un nucleótido en particular dentro de un

codón que está en, contiene o está cerca del sitio de empalme se modifica (por ejemplo, se sustituye o se reemplaza). En algunos aspectos, la modificación (como la sustitución o el reemplazo) retiene o preserva el aminoácido codificado por el codón en particular en el sitio, al mismo tiempo que elimina los posibles sitios donantes o aceptores de empalme.

[000437] En determinadas modalidades, el codón que está en o está cerca del sitio de empalme para la modificación comprende uno o más codones que involucran uno o ambos de los dos nucleótidos en el posible sitio de empalme (en algunos casos referido como "codón del sitio de empalme"). Cuando se predice que el posible empalme ocurrirá entre dos nucleótidos en un codón, el codón es el único codón del sitio de empalme de este sitio de empalme. Si se predice que el posible empalme ocurrirá entre dos codones adyacentes, por ejemplo, entre el último nucleótido del primer codón y el primer nucleótido del siguiente codón, los dos codones son codones del sitio de empalme. Por ejemplo, en el caso de los sitios de empalme que se predice que están en los límites de dos codones, los dos codones adyacentes pueden ser candidatos para la modificación de nucleótidos. En determinadas modalidades, uno o más codones comprenden un codón del sitio de empalme. En determinadas modalidades, uno o más codones comprenden ambos codones del sitio de empalme. En determinadas modalidades, un posible sitio donante de empalme

se elimina modificando uno o ambos codones del sitio de empalme. En determinadas modalidades, un posible sitio donante o aceptor de empalme se elimina modificando uno o ambos codones del sitio de empalme. En determinadas modalidades, uno o ambos codones en el sitio de empalme no se modifican, por ejemplo, cuando no hay ningún codón sinónimo para el codón del sitio de empalme. En determinadas modalidades, si no hay codones sinónimos disponibles para el codón del sitio de empalme en particular, uno o más nucleótidos en un codón cercano pueden modificarse. En determinadas modalidades, uno o más codones que se modifican pueden ser un codón del sitio de empalme, donde la modificación comprende cambiar uno o ambos nucleótidos en el sitio de empalme por un nucleótido diferente o nucleótidos diferentes. En determinadas modalidades, el sitio donante de empalme se elimina modificando uno o ambos codones del sitio de empalme, donde la modificación no cambia uno o dos de los nucleótidos del sitio del empalme a un nucleótido diferente, sino a un nucleótido cercano, por ejemplo, una parte de un codón adyacente al sitio del empalme, se modifica. En determinadas modalidades, los nucleótidos cercanos o adyacentes que pueden modificarse incluyen la modificación de un nucleótido que es parte de un codón cercano o adyacente, tal como un codón que está dentro de uno, dos, tres, cuatro,

cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez codones aguas arriba o aguas abajo del codón del sitio de empalme.

[000438] En algunos casos, los polinucleótidos pueden modificarse manualmente, preservando al mismo tiempo la secuencia de aminoácidos codificada, para reducir la probabilidad de un sitio de empalme previsto. En determinadas modalidades, uno o más de los sitios de empalme predichos habiendo al menos 80%, 85%, 90%, o 95% probabilidad de un sitio de empalme se modifican manualmente para reducir la probabilidad del evento de empalme. En determinadas modalidades, una o más modificaciones se realizan por reemplazo o sustitución de nucleótidos de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 nucleótidos. En determinadas modalidades, la(s) modificación(es) se encuentra(n) en la unión del sitio donante de empalme o en la unión del sitio aceptor del empalme. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades, donde al menos una modificación nucleótida o más se encuentran dentro de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos de la unión del sitio de empalme del sitio aceptor de empalme y/o el sitio donante de empalme de referencia. En algunas modalidades, se pueden generar bibliotecas de secuencias de ácido nucleico modificadas con una probabilidad reducida de sitios de empalme crípticos. En determinadas modalidades, los sitios donantes de empalmes y los sitios aceptores de empalmes se evalúan como pares de donantes/aceptores de

empalmes. En determinadas modalidades, los sitios donantes de empalmes y los sitios aceptores de empalmes se evalúan de forma independiente o individual y no forman parte de un par de donantes/aceptores de empalmes. En determinadas modalidades, uno o más sitios de empalme previstos no se eliminan. En determinadas modalidades, no se eliminan los sitios de empalme, como los sitios de empalme conocidos o previstos dentro de la región promotora de la construcción.

[000439] En algunas modalidades, uno o más sitios de empalme donante potenciales se eliminan por modificación de uno o dos codones de sitio de empalme o uno o más codones adyacentes o cercano (por ejemplo, si un codón sinónimo no está disponible para el codón del sitio de empalme). En algunas modalidades, uno o más sitios de empalme aceptores potenciales se eliminan por modificación de uno o dos codones de sitio de empalme o uno o más codones adyacentes o cercano (por ejemplo, si un codón sinónimo no está disponible para el codón del sitio de empalme). En algunas modalidades, el codón cercano o adyacente que está sujeto a modificación incluye un codón que se encuentra a uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez codones aguas arriba o abajo del codón del sitio de empalme, como un codón que se encuentra a uno, dos o tres codones del sitio de empalme. En algunas modalidades, se retira o elimina un sitio de ramificación potencial para empalme. En algunos aspectos, un nucleótido dentro el codón —

en el sitio de ramificación o cerca de este— puede ser modificado (por ejemplo, sustituido o reemplazado) para eliminar empalmes crípticos o para reducir la heterogeneidad del ARN. En algunas modalidades, la modificación de uno o más nucleótidos puede involucrar una sustitución o un reemplazo de uno de los nucleótidos que pueden estar implicados en el empalme (como en el sitio donante de empalme, el sitio aceptor de empalme o el sitio de ramificación del empalme), de modo que el aminoácido codificado por el codón se preserve y que la sustitución o el reemplazo del nucleótido no modifiquen la secuencia de polipéptidos codificada por el polinucleótido. En ciertos casos, la tercera posición en el codón es más redundante (está más degenerado) que las otras dos posiciones. De este modo, diversos codones sinónimos pueden codificar un aminoácido particular (véase, por ejemplo, la Sección I.B.2.a. Anterior). En algunas modalidades, la modificación incluye el reemplazo del codón con un codón sinónimo utilizado en la especie de célula en la que se introduce el polinucleótido (por ejemplo, humana). En algunas modalidades, la especie es humana. En algunas modalidades, el reemplazo de uno o más codones se realiza con codones sinónimos correspondientes que son los de uso más frecuente en la especie o tomando codones sinónimos que tienen una frecuencia de uso similar (por ejemplo, la

frecuencia de uso más próxima) como codón correspondiente (véase, por ejemplo, la Sección I.B.2.a. Anterior).

[000440] En algunas modalidades, se evalúa la determinación de candidatos transgén para la eliminación de sitios de empalme luego de la modificación inicial propuesta. En algunos aspectos, la modificación propuesta puede volver a evaluarse para estimar la modificación propuesta e identificar todo sitio de empalme potencial adicional luego de la modificación o la optimización de codones. En algunos aspectos, después de modificar la secuencia para la optimización de codones o la eliminación del sitio de empalme, se llevan a cabo una o más evaluaciones adicionales de una secuencia, tal como una secuencia de ácido nucleico revisada o modificada, para determinar aún más la eliminación de sitios de empalme, tales como los sitios de empalme crípticos, utilizando la misma herramienta de predicción de sitios de empalme o una o más herramientas diferentes o adicionales. En algunos aspectos, las modificaciones propuestas se tienen en cuenta para los pasos siguientes y puede usarse (un proceso de) optimización iterativa. En algunos aspectos, los métodos de cualquiera de las etapas de identificación o modificación pueden repetirse, por ejemplo, hasta que la heterogeneidad de la construcción se reduzca en comparación con la heterogeneidad de la construcción según fuera determinada inicialmente. En algunas modalidades, una

modificación adicional o diferente, como una sustitución de un nucleótido diferente en el mismo codón o una modificación de una posición diferente de un codón, puede hacerse luego de (un proceso de) evaluación iterativa. En algunas modalidades, puede usarse un codón sinónimo diferente correspondiente, tal como el segundo más frecuentemente utilizado en la especie en particular o un codón que tenga una frecuencia de uso similar (por ejemplo, el de la frecuencia de uso más próxima) como codón correspondiente (véase, por ejemplo, la Sección II.B.2 anterior).

[000441] En algunos aspectos, una modificación propuesta puede evaluarse adicionalmente, por ejemplo, para estimar si tal modificación genera un centro de restricción adicional o no deseado en el polinucleótido. En algunos aspectos, un centro de restricción adicional puede no ser deseado y una modificación adicional o diferente (por ejemplo, con una sustitución de nucleótido diferente en el mismo codón o una modificación en una posición o codón diferentes) puede tomarse en cuenta. En algunos aspectos, se evita un centro de restricción particular, tal como un centro de restricción designado. En algunos aspectos, si la modificación no reduce sustancialmente el puntaje de predicción del sitio de empalme, puede proponerse una modificación adicional o alternativa. En algunas modalidades, el puntaje de predicción del sitio de empalme puede reducirse o se reduce o disminuye

en, al menos, aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 % o 75 % luego de una o más iteraciones de los métodos.

[000442] En algunas modalidades, puede usarse un sistema informático para ejecutar uno o más pasos, herramientas funciones, procesos o scripts. En algunas modalidades, la predicción, evaluación y modificación del sitio de empalme para la eliminación de un sitio de empalme puede realizarse mediante métodos implementados por computadora o métodos que incluyan pasos que se implementen por computadora. En algunas modalidades, la comparación de las secuencias con una base de datos conocida, el cálculo de un puntaje de predicción de un sitio de empalme, la determinación de modificaciones potenciales a un nucleótido, la optimización de codones o cualquiera de los pasos iterativos pueden implementarse con una computadora o utilizando pasos, herramientas, funciones, procesos o scripts implementados por computadora. En modalidades particulares, se indica un sistema informático que comprende un procesador y una memoria, en donde la memoria contiene instrucciones operativas que hacen que el procesador lleve a cabo uno o más de los métodos cualesquiera que se indican en la presente. En algunas modalidades, los pasos, las funciones, los procesos y los scripts se ejecutan de manera computacional, por ejemplo, utilizando uno o más

programas informáticos o por medio del uso de algoritmos computacionales.

[000443] Ejemplos de pasos, funciones, procesos o scripts para la identificación o eliminación de posibles sitios de empalme incluyen uno o más pasos de lo siguiente: selección de secuencias, escritura de secuencias en formato FASTA, carga de tablas de codones (por ejemplo, desde www.kazusa.or.jp/codon), ejecución de GeneSplicer, carga de predicciones, análisis de codones, determinación de superposiciones en la predicción, identificación del codón sinónimo que tenga la siguiente frecuencia de uso más alta, revisión de centros de restricción, generación de comentarios o evaluación de otros codones. Los pasos particulares pueden evaluar hebras forward y reverse. En algunos aspectos, también pueden tenerse en cuenta las modificaciones previamente comentadas al sitio de empalme para dar cuenta de la optimización iterativa. En algunas modalidades, uno o más pasos, funciones, procesos o scripts pueden repetirse.

[000444] En algunas modalidades, un polinucleótido proporcionado que codifica un CAR anti-GPRC5D como se indica en la presente o un constructo como se indica en la presente, incluye modificaciones para eliminar uno o más sitios donantes o aceptores de empalmes que puedan contribuir a eventos de empalme o a una expresión reducida o a un aumento en la heterogeneidad del ARN. En algunas modalidades, los

polinucleótidos indicados están modificados en uno o más polinucleótidos en la región del espaciador para eliminar o reducir eventos de empalme. Entre los sitios donantes y aceptores de empalmes potenciales que están modificados o no incluidos en un CAR indicado están expuestos en los SEQ ID n.°: 176, 177, 178, 179, 180 o 181. En algunas modalidades, los nucleótidos de tales sitios modificados para reducir o eliminar sitios de empalme o sitios donantes potenciales están expuestos en los SEQ ID n.°: 182, 183, 184, 185, 186, 187 o 188. En algunas modalidades, un polinucleótido indicado que codifica un CAR anti-GPRC5D u otro CAR contiene una o más secuencias de nucleótidos expuestas en los SEQ ID n.°: 182, 183, 184, 185, 186, 187 o 188. En algunas modalidades, un CAR anti-GPRC5D indicado incluye la secuencia de nucleótidos expuesta en el SEQ ID n.°: 74. En determinadas modalidades, el espaciador se codifica por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:283. En determinadas modalidades, el espaciador se codifica por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:284. En determinadas modalidades, el espaciador se codifica por la secuencia de nucleótidos presentada en el SEQ ID n.°:305.

c. Otras características

[000445] También se indican los vectores que contienen los polinucleótidos y las células hospedadoras que contienen los vectores, por ejemplo, para la producción de receptores de

antígeno quimérico. También se indican los métodos para la producción de receptores de antígeno quimérico. El ácido nucleico puede codificar un receptor de antígeno quimérico que comprende una región V_L o una región V_H de un anticuerpo (por ejemplo, las cadenas liviana o pesada del anticuerpo). El ácido nucleico puede codificar uno o más receptores amino de antígeno quimérico que comprenden, cada uno de ellos, una región V_L o una región V_H de un anticuerpo (por ejemplo, las cadenas liviana o pesada del anticuerpo). En una modalidad adicional, se indican uno o más vectores (por ejemplo, vectores de expresión) que comprenden tales polinucleótidos. En una modalidad adicional, se indica una célula hospedadora que comprende tales polinucleótidos. En una modalidad de tal tipo, una célula hospedadora comprende (por ejemplo, ha sido transformada con) un vector que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico que, a su vez, comprende la región V_H de un anticuerpo. En otra modalidad de tal tipo, una célula hospedadora comprende (por ejemplo, ha sido transformada con) (1) un vector que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico que, a su vez, comprende la región V_L de un anticuerpo o, (2) un primer vector que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico que, a su vez, comprende un primer anticuerpo y un segundo vector que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico que,

a su vez, comprende un segundo anticuerpo. En algunas modalidades, una célula hospedadora comprende (por ejemplo, ha sido transformada con) uno o más vectores que comprenden uno o más ácidos nucleicos que codifican uno o más receptores de antígeno quimérico. En algunas modalidades, se indican una o más de tales células hospedadoras. En algunas modalidades, se indica una composición que contiene una o más de tales células hospedadoras. En algunas modalidades, una o más células hospedadoras pueden expresar diferentes receptores de antígeno quimérico o el mismo receptor de antígeno quimérico. En algunas modalidades, cada una de las células hospedadoras puede expresar más de un receptor de antígeno quimérico.

[000446] También se indican los métodos de preparación de los receptores de antígeno quimérico anti-GPRC5D. En el caso de la producción recombinante de receptores quiméricos, una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo receptor quimérico, por ejemplo, como el que se describe en la presente, puede aislarse e insertarse en uno o más vectores para la clonación adicional o la expresión en una célula hospedadora. Tales secuencias de ácido nucleico pueden aislarse y secuenciarse fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótidos que sean capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas livianas y pesadas del anticuerpo). En algunas modalidades, se indica un método de

preparación de receptor de antígeno quimérico anti-GPRC5D que implica el cultivo de una célula hospedadora que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el anticuerpo, como se indicó anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del receptor.

[000447] También se indican los métodos de preparación de los receptores de antígeno quimérico anti-BCMA. En el caso de la producción recombinante de receptores quiméricos, una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo receptor quimérico, por ejemplo, como el que se describe en la presente, puede aislarse e insertarse en uno o más vectores para la clonación adicional o la expresión en una célula hospedadora. Tales secuencias de ácido nucleico pueden aislarse y secuenciarse fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótidos que sean capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas livianas y pesadas del anticuerpo). En algunas modalidades, se indica un método de preparación del receptor de antígeno quimérico anti-BCMA que implica el cultivo de una célula hospedadora que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el anticuerpo, como se indicó anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del receptor.

[000448] También se indican los métodos de preparación de constructos de antígeno quimérico que comprenden un receptor

de antígeno quimérico anti-GPRC5D y un receptor de antígeno quimérico anti-BCMA. En el caso de la producción recombinante de receptores quiméricos, una secuencia de ácido nucleico que codifica ambos anticuerpos receptores quiméricos, por ejemplo, como los que se describen en la presente, puede aislarse e insertarse en uno o más vectores para la clonación o expresión adicional en una célula hospedadora. Tales secuencias de ácido nucleico pueden aislarse y secuenciarse fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótidos que sean capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas livianas y pesadas del anticuerpo). En algunas modalidades, se indica un método de preparación de los CAR duales que implica el cultivo de una célula hospedadora que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica los anticuerpos, como se indicó anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del receptor.

[000449] También se indican los métodos de preparación de los receptores de antígeno quimérico que se unen a GPRC5D y a BCMA. En el caso de la producción recombinante de receptores quiméricos, una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo receptor quimérico, por ejemplo, como el que se describe en la presente, puede aislarse e insertarse en uno o más vectores para la clonación adicional o la expresión en una célula hospedadora. Tales secuencias de ácido nucleico

pueden aislarse y secuenciarse fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótidos que sean capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas livianas y pesadas del anticuerpo). En algunas modalidades, se indica un método de preparación del receptor de antígeno quimérico que se une a BCMA y a GPRC5D que implica el cultivo de una célula hospedadora que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el anticuerpo, como se indicó anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del receptor.

[000450] En algunas modalidades, se indica un método de preparación de una composición celular que comprende células que expresan al receptor de antígeno quimérico anti-BCMA y células que expresan al receptor de antígeno quimérico anti-GPRC5D.

[000451] Además de los procariotas, los microbios eucarióticos como los hongos filamentosos o las levaduras son hospedadores adecuados para la clonación o expresión de vectores codificadores de anticuerpos. Esto incluye cepas de hongos y levaduras cuyas vías de glicosilación han sido modificadas para imitar o aproximarse a las de las células humanas, lo que da como resultado la producción de un anticuerpo con un patrón de glicosilación parcial o completamente humano. Ver Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), y Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).

[000452] Ejemplos de células eucariotas que pueden usarse para expresar polipéptidos incluyen, sin limitación alguna, células COS, entre ellas, células COS 7; células 293, entre ellas, células 293-6E; células CHO, entre ellas, células CHO-S, células DG44, Lec13 CHO y células FUT8 CHO; células PER.C6® y células NSO. En algunas modalidades, las cadenas pesadas o las cadenas livianas del anticuerpo (por ejemplo, las regiones V_H o V_L) pueden expresarse en levaduras (véase por ejemplo, la publicación de EE. UU. núm. US 2006/0270045 A1). En algunas modalidades, se selecciona una célula hospedadora eucariótica en particular tomando como base su capacidad para realizar modificaciones postraduccionales deseadas en cadenas pesadas o livianas (por ejemplo, las regiones V_H o V_L). Por ejemplo, en algunas modalidades, las células CHO producen polipéptidos que tienen un nivel superior de sililación que el del mismo polipéptido producido en células 293. En ejemplos particulares, se utilizan células inmunes, tales como las células inmunes humanas, para expresar los polipéptidos indicados que codifican los receptores de antígeno quimérico. En algunos ejemplos, las células inmunes son linfocitos T tales como células inmunes CD4+ o CD8+.

II. Polinucleótidos codificadores y receptores de unión a BCMA

[000453] En algunos aspectos, se proporcionan agentes de unión a BCMA, tales como receptores recombinantes o receptores de antígeno quimérico que se unen a moléculas de BCMA y polinucleótidos que codifican proteínas de superficie celular de unión a BCMA, tales como receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), y células que expresan tales receptores. Las proteínas de la superficie celular de unión a BCMA generalmente contienen anticuerpos (por ejemplo, fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno) y/u otros péptidos de unión que se unen específicamente a BCMA, como a proteínas de BCMA, como la proteína BCMA humana. En algunos aspectos, el agente se une a una porción extracelular de BCMA.

[000454] Entre los polinucleótidos indicados se encuentran los que codifican receptores recombinantes, tales como los receptores de antígenos, que se unen específicamente a BCMA. En algunos aspectos, también se indican los receptores codificados, como los que contienen polipéptidos de unión a BCMA, y las composiciones y los artículos de fabricación y los usos de estos.

[000455] Entre los polipéptidos de unión a BCMA se encuentran anticuerpos, como los anticuerpos de cadena simple (por ejemplo, fragmentos de anticuerpos que se unen a antígenos) o porciones de estos. En algunos ejemplos, los receptores recombinantes son receptores de antígeno quimérico, tales como los que contienen anticuerpos anti-BCMA

o fragmentos de unión a antígenos de estos. Los polinucleótidos indicados pueden incorporarse en constructos, como constructos de ácido desoxirribonucleico (ADN) o de ARN, tales como los que pueden introducirse en células para la expresión de los receptores recombinantes codificados de unión a BCMA.

[000456] Los polinucleótidos que codifican los polipéptidos de unión a BCMA comprenden características como las expuestas en secciones similares precedentes, incluida la Sección I (por ejemplo, Sección I.C).

[000457] Los receptores de unión a BCMA indicados contienen, por lo general, una molécula de unión extracelular y un dominio de señalización intracelular. Entre los receptores indicados se encuentran polipéptidos que contienen anticuerpos, tales como los receptores recombinantes superficiales celulares que contienen anti-BCMA. Tales receptores incluyen receptores de antígenos quiméricos que contienen tales anticuerpos.

[000458] Entre los receptores recombinantes indicados se encuentran receptores de antígeno quimérico que incluyen un fragmento de unión a BCMA. Los receptores recombinantes incluyen receptores de antígeno quimérico que se unen específicamente a BCMA, como los receptores de antígeno que contienen los anticuerpos anti-BCMA, por ejemplo, fragmentos de unión a antígeno BCMA. Entre los receptores quiméricos se

encuentran los receptores de antígenos quiméricos (CAR). También se indican las células que expresan los receptores recombinantes y los usos de estas en la terapia celular adoptiva, como el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados o con la expresión de BCMA, por ejemplo, el mieloma múltiple.

[000459] Entre los receptores quiméricos se encuentran los receptores de antígenos quiméricos (CAR). Los receptores quiméricos, tales como los CAR, por lo general incluyen un dominio de unión al antígeno extracelular que incluye, es o comprende un anticuerpo anti-BCMA. Así, los receptores quiméricos, por ejemplo, los CAR, por lo general incluyen en sus porciones extracelulares una o más moléculas de unión a BCMA, tales como uno o más fragmentos, dominios o porciones de unión a antígenos, o una o más regiones variables o moléculas de anticuerpos, tales como los que se describen en la presente.

[000460] En determinadas modalidades, el primer CAR incluye una o unas porciones de unión a GPRC5D de la molécula del anticuerpo, tales como una región variable de cadena pesada (V_H) y/o una región variable de cadena ligera (V_L) del anticuerpo, por ejemplo, un fragmento de anticuerpo scFv. En algunas modalidades, los CAR que se unen a GPRC5D contienen un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-GPRC5D, o un fragmento de unión a antígeno de este que confiere las

propiedades de unión a GPRC5D del CAR proporcionado. En determinadas modalidades, el dominio de unión a antígeno o el anticuerpo puede ser cualquier anticuerpo antiGPRC5D descrito o derivar de cualquier anticuerpo antiGPRC5D descrito (véase, por ejemplo, WO 2016/090312, WO 2016/090329, WO 2018/017786). Cualquiera de dichos anticuerpos anti-GPRC5D o fragmentos de unión a antígeno pueden usarse en los CAR proporcionados. En determinadas modalidades, el CAR antiGPRC5D contiene un domino de unión a antígeno que es un scFv que contiene una región variable pesada (V_H) y/o una variable ligera (V_L) derivada de un anticuerpo descrito en WO 2016/090312, WO 2016/090329, o WO 2018/017786.

[000461] En determinadas modalidades, el anticuerpo, por ejemplo, el anticuerpo antiGPRC5D o el fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de región variable de cadena pesada y/o ligera (V_H o V_L) tal como se describió, o una porción suficiente de la unión a antígeno de esto. En determinadas modalidades, el anticuerpo antiGPRC5D, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de región V_H o porción suficiente de la unión a antígeno de esto que contiene CDR-H1, CDR-H2 y/o CDR-H3 tal como se describió. En determinadas modalidades, el anticuerpo antiGPRC5D, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de región V_L o porción suficiente de la unión a antígeno que contiene CDR-L1, CDR-L2 y/o CDR-L3

tal como se describió. En determinadas modalidades, el anticuerpo antiGPRC5D, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene una secuencia de región V_H que contiene CDR-H1, CDR-H2 y/o CDR-H3 tal como se describió y contiene una secuencia de región V_L que contiene CDR-L1, CDR-L2 y/o CDR-L3 tal como se describió. También entre los anticuerpos están aquellos que tienen secuencias al menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91%, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % idénticas a dicha secuencia.

[000462] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo, en el CAR proporcionado, tiene una región V_H de cualquiera de los anticuerpos o de los fragmentos de unión a anticuerpo descritos en cualquiera de WO 2016/090312, WO 2016/090329, y WO 2018/017786.

[000463] En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto, que tiene una región variable de cadena pesada (V_H) que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31, o 33, o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %,

aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con la región V_H de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31, o 33, o contiene un CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3 presentes en dicha secuencia V_H.

[000464] En determinadas modalidades, la región V_H de un anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno de este comprende un CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3 conforme a la numeración Kabat. En determinadas modalidades, la región V_H de un anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno de este comprende un CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3 conforme a la numeración Chothia. En determinadas modalidades, la región V_H de un anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno de este comprende un CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3 conforme a la numeración AbM.

[000465] En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto, que tiene una región variable de cadena pesada (V_H) que comprende un CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.°: 75, 78, 80, 82, 90, 93, 95, 97, 105, 108, 110, 112, 120, 123, 125, 127, 135, 138, 140, 142, 152, 162, 165, 167 y 169; (b) un CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID n.° 76, 79, 81, 83, 91, 94, 96, 98, 106, 109, 111, 113, 121, 124, 126, 128, 136, 139, 141, 143, 150, 153, 154,

155, 163, 166, 168 y 170; y (c) un CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID n.° 77, 84, 92, 99, 107, 114, 122, 129, 137, 144, 151, 156, 164, y 171.

[000466] En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de esto comprende una región V_H que comprende un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 75, 76 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°: 78, 79 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°: 80, 81 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°: 82, 83 y 84, respectivamente; SEQ ID n.°: 90, 91 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°: 93, 94 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°: 95, 96 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°: 97, 98 y 99, respectivamente; SEQ ID n.°: 105, 106 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°: 108, 109 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°: 110, 111 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°: 112, 113 y 114, respectivamente; SEQ ID n.°: 120, 121 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°: 123, 124 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°: 125, 126 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°: 127, 128 y 129, respectivamente; SEQ ID n.°: 135, 136 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°: 138, 139 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°: 140, 141 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°: 142, 143 y 144, respectivamente; SEQ ID n.°: 135, 150 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°: 152, 153 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°: 140, 154 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°: 142,

155 y 156, respectivamente; SEQ ID n.°: 162, 163 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°: 165, 166 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°: 167, 168 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°: 169, 170 y 171, respectivamente.

[000467] En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 75, 76 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°: 78, 79 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°: 80, 81 y 77, respectivamente; SEQ ID n.°: 82, 83 y 84, respectivamente; SEQ ID n.°: 90, 91 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°: 93, 94 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°: 95, 96 y 92, respectivamente; SEQ ID n.°: 97, 98 y 99, respectivamente; SEQ ID n.°: 105, 106 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°: 108, 109 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°: 110, 111 y 107, respectivamente; SEQ ID n.°: 112, 113 y 114, respectivamente; SEQ ID n.°: 120, 121 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°: 123, 124 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°: 125, 126 y 122, respectivamente; SEQ ID n.°: 127, 128 y 129, respectivamente; SEQ ID n.°: 135, 136 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°: 138, 139 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°: 140, 141 y 137, respectivamente; SEQ ID n.°: 142, 143 y 144, respectivamente; SEQ ID n.°: 135, 150 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°: 152, 153 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°: 140, 154 y 151, respectivamente; SEQ ID n.°: 142, 155 y 156, respectivamente; SEQ ID n.°: 162,

163 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°: 165, 166 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°: 167, 168 y 164, respectivamente; SEQ ID n.°: 169, 170 y 171, respectivamente.

[000468] En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este comprende un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3, respectivamente, que comprende la secuencia de aminoácidos de un CDR-H1, un CDR-H2 y un CDR-H3 contenido dentro de la secuencia de aminoácidos de región V_H expuesta en cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33.

[000469] En determinadas modalidades del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este que se proporciona en la presente, la región V_H comprende cualquiera de CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 tal como se describió y comprende una región de armazón 1 (FR1) una FR2, una FR3 y/o una FR4 que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad de secuencia, respectivamente, con una FR1, una FR2, una FR3, yo una FR4 contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de región V_H expuesta en cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33.

[000470] En determinadas modalidades, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto, comprende una región

V_H que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33.

[000471] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo, en el CAR proporcionado (por ejemplo, un CAR antiGPRC5D) que comprende una región V_H también comprende una cadena ligera o una porción suficiente de la unión a antígeno de esto. Por ejemplo, En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de esto, contiene una región V_H y una región V_L o una porción suficiente de la unión a antígeno de una región V_H y V_L. En dichas modalidades, una secuencia de región V_H puede ser cualquiera de las secuencias V_H descritas más arriba. En determinadas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de unión al antígeno tal como un Fab o un scFv. En algunas de tales modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa que también contiene una región constante.

[000472] En determinadas modalidades, un CAR proporcionado aquí, contiene un anticuerpo tal como un anticuerpo antiGPRC5D, o un fragmento de unión a antígeno de esto que contiene cualquiera de las regiones V_H mencionadas más arriba y contiene una región de variable de cadena liviana o una porción suficiente de la unión a antígeno de esto. Por ejemplo, En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto que contiene una región V_H y una región de variable de cadena

liviana (V_L) o una porción suficiente de la unión a antígeno de una región V_H y V_L. En dichas modalidades, una secuencia de región V_H puede ser cualquiera de las secuencias V_H descritas más arriba. En determinadas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de unión al antígeno tal como un Fab o un scFv. En algunas de tales modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa que también contiene una región constante.

[000473] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de antígeno tiene una región V_L descrita en cualquiera de WO 2016/090312, WO 2016/090329, y WO 2018/017786.

[000474] En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto, que tiene una región variable de cadena ligera (V_L) que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68, o 69, o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con la región V_L de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68, o 69, o contiene un CDR-L1, CDR-L2, y/o CDR-

L3 presente en dicha secuencia V_L. En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto, que tiene una región variable de cadena ligera (V_L) que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32 o 34 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos o aproximadamente un 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia en relación con el aminoácido de la región V_L que se selecciona de los SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32 o 34, o contiene una CDR-L1, una CDR-L2 y/o una CDR-L3 en la secuencia de V_L. En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto, que tiene una región variable de cadena ligera (V_L) que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 63, 64, 65, 66, 67, 68, o 69, o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con la región V_L de aminoácidos seleccionada de

cualquiera de SEQ ID n.°: 63, 64, 65, 66, 67, 68 o 69, o contiene una CDR-L1, una CDR-L2 y/o una CDR-L3 en la secuencia de V_L.

[000475] En algunas modalidades, la región V_L de un fragmento de unión a anticuerpo o a antígeno de este comprende un CDR-L1, CDR-L2 y/o CDR-L3 según la numeración de Kabat. En algunas modalidades, la región V_L de un fragmento de unión a anticuerpo o a antígeno de este comprende un CDR-L1, CDR-L2 y/o CDR-L3 según la numeración de Chothia. En algunas modalidades, la región V_L de un fragmento de unión a anticuerpo o a antígeno de este comprende un CDR-L1, CDR-L2 y/o CDR-L3 según la numeración de AbM.

[000476] En determinadas modalidades, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto, que tiene una región variable de cadena liviana (V_L) que comprende un CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.°: 85, 88, 100, 103, 115, 118, 130, 133, 145, 148, 157, 160, 172 y 174; (b) un CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID n.° 86, 89, 101, 104, 116, 119, 131, 134, 146, 149, 158 y 161; y (c) un CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID n.° 87, 102, 117, 132, 147, 159, 173 y 175.

[000477] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de esto, contiene una región V_L

que comprende un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 85, 86 y 87, respectivamente; SEQ ID n.°: 88, 89 y 87, respectivamente; SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente; SEQ ID n.°: 103, 104 y 102, respectivamente; SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente; SEQ ID n.°: 118, 119 y 117, respectivamente; SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente; SEQ ID n.°: 133, 134 y 132, respectivamente; SEQ ID n.°: 145, 146 y 147, respectivamente; SEQ ID n.°: 148, 149 y 147, respectivamente; SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente; SEQ ID n.°: 160, 161 y 159, respectivamente; SEQ ID n.°: 172, 86 y 173, respectivamente; SEQ ID n.°: 174, 89 y 175, respectivamente; SEQ ID n.°: 174, 89 y 297, respectivamente.

[000478] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de esto, contiene una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 85, 86 y 87, respectivamente; SEQ ID n.°: 88, 89 y 87, respectivamente; SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente; SEQ ID n.°: 103, 104 y 102, respectivamente; SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente; SEQ ID n.°: 118, 119 y 117, respectivamente; SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente; SEQ ID n.°: 133, 134 y 132, respectivamente; SEQ ID n.°: 145, 146 y 147, respectivamente; SEQ ID n.°: 148, 149 y 147, respectivamente; SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente; SEQ ID n.°: 160, 161 y 159, respectivamente; SEQ ID n.°: 172,

86 y 173, respectivamente; SEQ ID n.°: 174, 89 y 175, respectivamente; SEQ ID n.°: 174, 89 y 297, respectivamente.

[000479] En determinadas modalidades, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3, respectivamente, contenidos dentro de la secuencia de aminoácidos de región V_L seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68, o 69. En determinadas modalidades, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3, respectivamente, contenidos dentro de la secuencia de aminoácidos de región V_L seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, o 34. En determinadas modalidades, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de esto contiene un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3, respectivamente, contenidos dentro de la secuencia de aminoácidos de región V_L seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 63, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

[000480] Entre los CAR que se proporcionan en la presente, se encuentra un CAR en el que el anticuerpo, tal como un anticuerpo antiGPRC5D, o fragmento de anticuerpo, en el CAR proporcionado, comprende una secuencia de aminoácidos de región V_H que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente

98 %, aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31, o 33 y una región V_L que contiene una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

[000481] En determinadas modalidades, la región V_H del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este comprende un CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3, respectivamente, que comprende las secuencias de aminoácidos de CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenido dentro de la secuencia de aminoácidos de región V_H seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31, o 33; y comprende un CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3, respectivamente, que comprende la secuencia de aminoácidos de CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, respectivamente, contenido dentro de la secuencia de aminoácidos de región V_L seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68, o 69.

[000482] En determinadas modalidades, la región V_L de un anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno de este

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31, o 33 y las regiones V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos 22, 24, 26, 28, 30, 32, o 34. En determinadas modalidades, las regiones V_H y V_L de un anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno de este comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 21 y 22, respectivamente; SEQ ID N.°: 23 y 24, respectivamente; SEQ ID N.°: 25 y 26, respectivamente; SEQ ID N.°: 27 y 28, respectivamente; SEQ ID N.°: 29 y 30, respectivamente; SEQ ID N.°: 31 y 32, respectivamente, o SEQ ID n.°: 33 y 34, respectivamente, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las V_H y V_L mencionadas más arriba, tales como por lo menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad de secuencia de ello.

[000483] Por ejemplo, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de esto proporcionadas aquí comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas de: SEQ ID N.°: 21 y 22; SEQ ID n.°: 23 y 24; SEQ ID n.°: 25 y 26; SEQ ID n.°: 27 y 28; SEQ ID n.°: 29 y 30; SEQ ID n.°: 31 y 32; SEQ ID n.°: 33 y 34, respectivamente. En otros ejemplos, las regiones V_H y V_L del anticuerpo o del fragmento de unión a antígeno de esto proporcionadas aquí comprenden

las secuencias de aminoácidos seleccionadas de: SEQ ID N.°: 21 y 63; SEQ ID n.°: 23 y 64; SEQ ID n.°: 25 y 65; SEQ ID n.°: 27 y 66; SEQ ID n.°: 29 y 67; SEQ ID n.°: 31 y 68; SEQ ID n.°: 33 y 69, respectivamente.

[000484] En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno de este, según el CAR proporcionado, representan un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tales como el fragmento de cadena simple variable (scFv), el diacuerpo o anticuerpo monodominio (sdAb). En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo de dominio único que comprende únicamente la región V_H. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno es un scFv que comprende una región variable de cadena pesada (V_H) y una región variable de cadena ligera (V_L). En determinadas modalidades, el fragmento de anticuerpo de cadena única (por ejemplo, scFv) incluye uno o más conectores que unen dos dominios o regiones de anticuerpo, tales como una región variable de cadena pesada (V_H) y una región variable de cadena ligera (V_L). El conector es generalmente un conector péptido, por ejemplo, un conector péptido soluble y/o flexible. Entre los conectores, se encuentran aquellos ricos en glicina y serina; en algunos casos, pueden contener treonina. En determinadas modalidades, los conectores también incluyen residuos cargados, tales como lisina y glutamato,

que pueden mejorar la solubilidad. En determinadas modalidades, los conectores también incluyen una o más prolinas.

[000485] Así, los CAR proporcionados contienen anticuerpos antiGPRC5D que incluyen fragmentos de anticuerpo de cadena única, tales como scFv y diacuerpos, particularmente fragmentos de anticuerpo de cadena única de humanos, que típicamente comprenden conector(es) que unen dos dominios o regiones de anticuerpos, tales como regiones V_H y V_L. El conector es generalmente un conector péptido, por ejemplo, un conector péptido soluble y/o flexible, tal como uno rico en glicina y serina.

[000486] En algunos aspectos, los conectores ricos en glicina y serina (o treonina) incluyen, al menos, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 %, tales como los aminoácidos. En determinadas modalidades, incluyen al menos o aproximadamente el 50 %, el 55 %, el 60 %, el 70 % o el 75 %, así como glicina, serina o treonina. En determinadas modalidades, el conector está compuesto totalmente por glicina, serina o treonina. Los conectores generalmente tienen entre 5 y 50 aminoácidos de longitud, típicamente aproximadamente entre 10 y aproximadamente 30, por ejemplo, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30, y en algunos ejemplos entre 10 y 25

aminoácidos de longitud. Entre algunos ejemplos de conectores, se encuentran los conectores que poseen varios números de repeticiones de la secuencia GGGGS (4GS; SEQ ID n.°: 50) o GGGGS (3GS, SEQ ID n.°: 51), por ejemplo, entre 2, 3, 4 y 5 repeticiones de dicha secuencia. Entre algunos conectores, se encuentran los que contienen o consisten en una secuencia establecida en SEQ ID n.°: 52 (GGGGSGGGGSGGGGS). Entre algunos conectores, se encuentran los que contienen o consisten en una secuencia establecida en SEQ ID n.°: 53 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG). Entre algunos conectores, se encuentran los que contienen o consisten en una secuencia establecida en SEQ ID n.°: 54 (SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA). Un conector ejemplar incluye aquellos que tienen o consisten de la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 47 (GSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA).

[000487] Así, en determinadas modalidades, las modalidades proporcionadas incluyen fragmentos de anticuerpo de cadena única, por ejemplo, scFv, que comprenden uno o más de los conectores mencionados anteriormente, tales como conectores ricos en glicina/serina, incluidos conectores que tienen repeticiones de GGGS (SEQ ID n.°: 51) o GGGGS (SEQ ID n.°: 50), tal como el conector establecido en SEQ ID n.°: 47, 52 o 54.

[000488] En determinadas modalidades, la región V_H puede ser amino-terminal a la región V_L. En determinadas modalidades,

la región V_H puede ser carboxilo terminal a la región V_L. En modalidades particulares, el fragmento, por ejemplo, scFv, puede incluir una región V_H o una porción de esta, seguida por el conector, seguido de una región V_L o una porción de esta. En otras modalidades, el fragmento, por ejemplo, el scFv, puede incluir la región V_L o una porción de esta, seguida por el conector, seguido de una región V_H o una porción de esta.

[000489] En algunos aspectos, un scFv proporcionado por intermedio de la presente comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 1-14, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad de la secuencia en relación con los secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.°: 1-14.

[000490] Entre los CAR antiGPRC5D se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 21 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %,

aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 21; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 22 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 22. En algunas modalidades, el CAR proporcionado en un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 21 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 21; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 63 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de

identidad con SEQ ID n.°: 63. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 75, 76 y 77, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 85, 86, y 87, respectivamente. En algunas modalidades, el fragmento de unión a anticuerpo o a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n°: 78, 79 y 77, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 85, 86 y 87, respectivamente. En algunas modalidades, el fragmento de unión a anticuerpo o a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n°: 80, 81 y 77, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 85, 86 y 87, respectivamente. En algunas modalidades, el fragmento de unión a anticuerpo o a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n°: 82, 83 y 84, respectivamente y una

región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 88, 89 y 87 respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 21 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 22. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 21 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 63. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 1, o una secuencia de aminoácidos de al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID n.°: 1. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 257, o una secuencia de nucleótidos al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente 96%, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente de 99 % de identidad para SEQ ID

n.°: 257. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 2, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para SEQ ID n.° 2. En determinadas modalidades, el snFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 258 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99% de identidad para SEQ ID n.° 258.

[000491] Entre los CAR antiGPRC5D se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 23 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 23; y contiene una región V_L que

comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 24 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 24. En algunas modalidades, el CAR proporcionado en un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 23 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 23; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 64 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 64. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un

CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 90, 91 y 92, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente. En algunas modalidades, el fragmento de unión a anticuerpo o a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n°: 93, 94 y 92, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 95, 96 y 92, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 97, 98 y 99, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 103, 104 y 102, respectivamente. En determinadas modalidades, la

región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:23 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:24. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 23 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 64. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:3 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:3. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:259 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:259. En determinadas modalidades, el scFv comprende la

secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°:4, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para el SEQ ID n.°:4. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:260 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:260.

[000492] Entre los CAR antiGPRC5D se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 25 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de

identidad con SEQ ID n.°: 25; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 26 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 26. En algunas modalidades, el CAR proporcionado en un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 25 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 25; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 65 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 65. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del CAR

proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 105, 106, 107, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 108, 109 y 107, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 110, 111 y 107, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 112, 113 y 114, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 118, 119

y 117, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:25 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:26. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 25 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 65. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:5 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:5. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:261 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID

n.°:261. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°:6, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para el SEQ ID n.°:6. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:262 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:262.

[000493] Entre los CAR antiGPRC5D se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 27 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente

97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 27; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 28 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 28. En algunas modalidades, el CAR proporcionado en un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 27 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 27; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 66 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 66. En determinadas modalidades, el

anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 120, 121 y 122, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 123, 124 y 122, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 125, 126 y 122, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 127, 128 y 129, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 133, 134 y 132, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:27 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:28. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 27 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 66. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:7 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:7. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:263 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o

aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:263. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°:8, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para el SEQ ID n.°:8. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:264 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:264.

[000494] Entre los CAR antiGPRC5D se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 29 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %,

aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 29; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 30 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 30. En algunas modalidades, el CAR proporcionado en un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 29 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 29; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 67 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de

identidad con SEQ ID n.°: 67. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 135, 136 y 137, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 145, 146 y 147, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 138, 139 y 137, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 145, 146 y 147, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 140, 141 y 137, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 145, 146 y 147, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 142, 143 y 144, respectivamente y

una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 148, 149 y 147, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:29 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:30. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 29 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 67. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:9 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:9. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:265 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o

aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:265. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°:10, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para el SEQ ID n.°:10. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:266 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:266.

[000495] Entre los CAR antiGPRC5D se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 31 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente

92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 31; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 32 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 32. En algunas modalidades, el CAR proporcionado en un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 31 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 31; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 68 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente

97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 68. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 135, 150 y 151, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 152, 153 y 151, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 140, 154 y 151, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID n.°: 142, 155 y 156, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 160, 161 y 159, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:31 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:32. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 31 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 68. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:11 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:11. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 267, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el

95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 267. En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID N.°:12 o una secuencia de aminoácidos al menos en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:12. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 268, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 268.

[000496] Entre los CAR antiGPRC5D se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 33 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %,

aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 33; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 34 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 34. En algunas modalidades, el CAR proporcionado en un CAR en el que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende a la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 33 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de identidad con SEQ ID n.°: 33; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID n.°: 69 o una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, o aproximadamente 99 % de

identidad con SEQ ID n.°: 69. En determinadas modalidades, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 162, 163 y 164, respectivamente y una región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 172, 86, 173, respectivamente. En algunas modalidades, el fragmento de unión a anticuerpo o a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n°: 165, 166 y 164, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 172, 86 y 173, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 167, 168 y 164, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 172, 86 y 173, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 169, 170, 171, respectivamente y

una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 174, 89 y 175, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 169, 170, 171, respectivamente y una región V_L que contiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 174, 89 y 297, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:33 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:34. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 33 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 69. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:13 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de

identidad en SEQ ID n.°:13. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:269 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:269. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en el SEQ ID n.°:14, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de identidad para el SEQ ID n.°:14. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 270, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o

aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 270.

[000497] Entre los anticuerpos, por ejemplo, los fragmentos de unión a antígeno, en los CAR proporcionados, son anticuerpos humanos. En determinadas modalidades de un anticuerpo humano anti-GPRC5D proporcionado, por ejemplo, fragmentos de unión a antígeno, el anticuerpo humano contiene una región V_H que comprende una porción que tiene una identidad de secuencia de al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % en una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena pesada humana de nucleótido, una porción que tiene al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100 % de identidad de secuencia a una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento D en la línea germinal de la cadena pesada humana de nucleótido, y/o una porción que tenga al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia en una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento J en la línea germinal de la cadena pesada humana de nucleótido; y/o contiene una región V_L que comprende una porción que tiene una identidad de secuencia de al menos 95 %, 96%, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena lambda o kappa humana de nucleótido o un segmento V de cadena lambda, y/o una porción que tiene una identidad de secuencia de al menos 95 %, 96 %,

97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de una secuencia de aminoácidos codificada por un segmento J en la línea germinal de cadena lambda o kappa humana de nucleótido. En determinadas modalidades, la porción de la región V_H corresponde al CDR-H1, CDR-H2, y/o CDR-H3. En determinadas modalidades, la porción de la región V_H corresponde a la región de estructura 1 (FR1), FR2, FR2, y/o FR4. En determinadas modalidades, la porción de la región V_L corresponde al CDR-L1, CDR-L2, y/o CDR-L3. En determinadas modalidades, la porción de la región V_L corresponde al FR1, FR2, FR2 y/o FR4.

[000498] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene un CDR-H1 con al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia en una secuencia de aminoácidos de la región CDR-H1 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena pesada humana de nucleótido. Por ejemplo, el anticuerpo humano. En determinadas modalidades contiene un CDR-H1 con una secuencia que es 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la región CDR-H1 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena pesada humana de nucleótido.

[000499] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene un

CDR-H2 con al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia en una secuencia de aminoácidos de la región CDR-H2 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena pesada humana de nucleótido. Por ejemplo, el anticuerpo humano En determinadas modalidades contiene un CDR-H2 con una secuencia que es 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la región CDR-H2 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena pesada humana de nucleótido.

[000500] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene un CDR-H3 con al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia en una secuencia de aminoácidos de la región CDR-H3 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V, un segmento D y un segmento J en la línea germinal de cadena pesada humana de nucleótido. Por ejemplo, el anticuerpo humano En determinadas modalidades contiene un CDR-H3 con una secuencia que es 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la región CDR-H3 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V, un segmento D y un segmento J en la línea germinal de cadena pesada humana de nucleótido.

[000501] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene un CDR-L1 con al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia en una secuencia de aminoácidos de la región CDR-L1 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena ligera humana de nucleótido. Por ejemplo, el anticuerpo humano En determinadas modalidades contiene un CDR-L1 con una secuencia que es 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la región CDR-L1 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena ligera humana de nucleótido.

[000502] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene un CDR-L2 con al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia en una secuencia de aminoácidos de la región CDR-L2 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V en la línea germinal de cadena ligera humana de nucleótido. Por ejemplo, el anticuerpo humano en determinadas modalidades contiene un CDR-L2 con una secuencia que es 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la región CDR-L2 correspondiente dentro de una secuencia codificada por

un segmento V en la línea germinal de cadena ligera humana de nucleótido.

[000503] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene un CDR-L3 con al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100 % de identidad de secuencia en una secuencia de aminoácidos de la región CDR-L3 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V y un segmento J en la línea germinal de cadena ligera humana de nucleótido. Por ejemplo, el anticuerpo humano En determinadas modalidades contiene un CDR-L3 con una secuencia que es 100 % idéntica o con no más de una, dos o tres diferencias de aminoácidos en comparación con la región CDR-L3 correspondiente dentro de una secuencia codificada por un segmento V y un segmento J en la línea germinal de cadena ligera humana de nucleótido.

[000504] En determinadas modalidades, el anticuerpo humano, por ejemplo, el fragmento de unión a antígeno, contiene una región estructura que contiene secuencias de segmentos de gen humano en la línea germinal. P. ej., En determinadas modalidades, el anticuerpo humano contiene una región V_H en la que la región de estructura, por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y FR4, tiene al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de una identidad de secuencia en una región de estructura codificada por un segmento de anticuerpos humanos en la línea germinal, tal como un segmento V y/o un segmento J. En

determinadas modalidades, el anticuerpo humano contiene una región V_L en la que la región de estructura, por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y FR4, tiene al menos el 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia en una región de estructura codificada por un segmento de anticuerpos humanos en la línea germinal, tal como un segmento V y/o un segmento J. Por ejemplo, en tales modalidades, la secuencia de la región de estructura contenida en la región V_H y/o en la región V_L difiere en un máximo de 10 aminoácidos, tales como por ejemplo en un máximo de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 aminoácido, en comparación con la secuencia de la región de estructura codificada por un segmento de anticuerpos humano en la línea germinal.

[000505] En determinadas modalidades, el otro receptor recombinante es un receptor anti-BCMA, y tal como un CAR anti-BCMA. Se contempla el uso o la incorporación de cualquier CAR anti-BCMA en las células, métodos y usos que se proporcionan en el presente documento. De igual manera se contemplan los polinucleótidos que codifican un receptor anti-GPRC5D proporcionado en la presente y otro receptor, por ejemplo, en un vector de expresión multicistrónico (por ejemplo, bicistrónico). Las moléculas CAR anti-BCMA ejemplificativas se describen en WO 2013/154760, WO 2015/052538, WO 2015/090229, WO 2015/092024, WO 2015/158671, WO 2016/014565, WO 2016/014789, WO 2016/094304, WO

2016/166630, WO 2017/021450, WO 2017/083511, WO 2017/130223, WO 2017/211900, WO 2018/085690, WO 2018/028647, WO 2019/090003.

[000506] En determinadas modalidades, el CAR es un CAR-anti-BCMA que es específico del BCMA, por ejemplo, BCMA humano. Los receptores de antígeno quiméricos que contienen anticuerpos anti-BCMA, incluidos los anticuerpos BCMA dirigidos contra IgG humana de ratón y anticuerpos dirigidos contra IgG humana de humano, y células que expresan estos receptores quiméricos han sido descriptos anteriormente. Véase Carpenter y col., Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060, WO 2016/090320, WO2016090327, WO2010104949A2 y WO2017173256. En algunas encarnaciones, el CAR anti-BCMA CAR contiene un dominio de unión a antígeno, tal como un scFv, que contiene una región variable pesada (V_H) y/o una región variable ligera (V_L) derivada de un anticuerpo descrito en WO 2016/090320 o WO2016090327.

[000507] Entre los CAR anti-BCMA proporcionados se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 189 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el

96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 189; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 190 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 190. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 199, 200, 201, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 218, 219 y 220, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:189 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:190. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:237 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o

aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:237. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:242 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:242. En determinadas modalidades, el CAR anti-BCMA tiene una secuencia de aminoácidos establecida en el NÚM. de SEC.: 247, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el , o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 247.

[000508] Entre los CAR anti-BCMA proporcionados se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a

antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 191 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:191; y contiene una región V_L que comprende una secuencia establecida SEQ ID n.°:192 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:192. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 202, 203, 204, respectivamente y la región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 221, 222, 223, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:191 y la región V_L comprende la secuencia

establecida en SEQ ID n.°:192. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:238 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:238. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:243 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:243. En determinadas modalidades, el CAR anti-BCMA tiene una secuencia de aminoácidos establecida en el NÚM. de SEC.: 248 o una secuencia de aminoácidos de al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o

aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:248.

[000509] Entre los CAR anti-BCMA proporcionados se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 193 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:193; y contiene una región V_L que comprende una secuencia establecida SEQ ID n.°:194 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:194. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 199, 200 y 205,

respectivamente y la región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 224, 225 y 226, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:193 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:194. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:239 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:239. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:244 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:244. En determinadas

modalidades, el CAR anti-BCMA tiene una secuencia de aminoácidos establecida en el NÚM. de SEC.: 249 o una secuencia de aminoácidos de al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:249.

[000510] Entre los CAR anti-BCMA proporcionados se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 195 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:195; y contiene una región V_L que comprende una secuencia establecida SEQ ID n.°:196 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o el o

aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:196. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 206, 207 y 208, respectivamente y la región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 227, 228 y 229, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 212, 213 y 214, respectivamente y la región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 233, 234 y 229, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:195 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:196. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:240 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o

aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:240. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:245 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:245. En determinadas modalidades, el CAR anti-BCMA tiene una secuencia de aminoácidos establecida en el NÚM. de SEC.: 250, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el , o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 250.

[000511] Entre los CAR anti-BCMA proporcionados se encuentra un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 197 o una secuencia de aminoácidos

que tenga al menos o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:197; y contiene una región V_L que comprende una secuencia establecida SEQ ID n.°:198 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:198. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 209, 210 y 211, respectivamente y la región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 230, 231 y 232, respectivamente. En determinadas modalidades, el antígeno o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 215, 216 y 217, respectivamente y

la región V_L que tiene un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 235, 236, 232, respectivamente. En determinadas modalidades, la región V_H comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:197 y la región V_L comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°:198. En determinadas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena simple, tal como un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:241 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad en SEQ ID n.°:241. En determinadas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°:246 o una secuencia de nucleótidos que tenga al menos, el o aproximadamente 90 %, el o aproximadamente 91 %, el o aproximadamente 92 %, el o aproximadamente 93 %, el o aproximadamente 94 %, el o aproximadamente 95 %, el o aproximadamente 96 %, el o aproximadamente 97 %, el o aproximadamente 98 %, o, el o aproximadamente 99 % de identidad de la secuencia en SEQ ID n.°:246. En determinadas

modalidades, el CAR anti-BCMA tiene una secuencia de aminoácidos establecida en el NÚM. de SEC.: 251 o 252, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el , o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 251 o 252.

[000512] En determinadas modalidades, el receptor recombinante tal como un CAR que comprende un anticuerpo anti-BCMA (por ejemplo, fragmento de unión a antígeno) que se proporciona en el presente documento, incluye además un espaciador, tal como el que se describe en la Sección I.1.b. anterior.

[000513] En determinadas modalidades, el receptor recombinante tal como un CAR que comprende un anticuerpo anti-BCMA (por ejemplo, fragmento de unión a antígeno) que se proporciona en el presente documento, incluye además un dominio transmembrana, tal como el que se describe en la Sección I.1.c. anterior.

III. Células Diseñadas

[000514] En la presente, también se incluyen células, tales como las células diseñadas que contienen un receptor recombinante (por ejemplo, un receptor de antígeno quimérico)

tal como el que contiene un dominio extracelular que incluye un receptor anti-GPRC5D como el descrito en la presente. En la presente, también se incluyen poblaciones de este tipo de células, composiciones que contienen estas células y/o que se encuentran enriquecidas por dichas células, tales como las que expresan el receptor de unión a GPRC5D constituyen al menos el 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, o más porcentaje de las células totales en la composición o células de un determinado tipo, tales como los linfocitos T, CD8+ o Cd4+células.

[000515] También se incluyen células tales como las células diseñadas que se diseñan para contener un receptor anti-GPRC5D recombinante. (por ejemplo, un CAR anti-GPRC5D) y al menos un segundo receptor recombinante. En determinadas modalidades, el segundo receptor es un receptor anti-BCMA. En algunas modalidades, el segundo receptor es un CAR. En determinadas modalidades, el receptor anti-GPRC5D es un CAR al igual que el segundo receptor es un CAR. En determinadas modalidades, las células diseñadas contienen un receptor anti-GPRC5D recombinante (por ejemplo, un CAR anti-GPRC5D), según se describe en la presente y el receptor anti-BCMA (por ejemplo, un CAR anti-BCMA). El receptor anti-BCMA puede ser cualquier receptor anti-BCMA conocido, tal como un CAR anti-BCMA CAR descrito en la presente o en otro documento (véase, por ejemplo, WO 2013/154760, WO 2015/052538, WO 2015/090229,

WO 2015/092024, WO 2015/158671, WO 2016/014565, WO 2016/014789, WO 2016/094304, WO 2016/166630, WO 2017/021450, WO 2017/083511, WO 2017/130223, WO 2017/211900, WO 2018/085690, WO 2018/028647). Los CAR anti-BCMA ejemplificativos se describen en la Sección II. Se contempla que cualquiera de los CAR anti-BCMA descritos puede utilizarse como un segundo CAR en cualquiera de los enfoques de diversos objetivos ya proporcionados con un CAR anti-GPRC5D para dirigirse tanto a un GPRC5D como a un BCMA.

[000516] En determinadas modalidades, las células diseñadas provistas en la presente pueden combinarse con una o más población(es) celular(es) diseñadas que expresan uno más receptor(es) recombinante(s). Tal(es) población(es) celular(es) de ingeniería pueden formularse en las mismas composiciones o en composiciones separadas. Entre las composiciones se encuentran las composiciones farmacéuticas y formulaciones para la administración, tales como la terapia de células adoptivas. También se proporcionan métodos terapéuticos para la administración a sujetos de cualquiera de las células o composiciones provistas en la presente, por ejemplo, a pacientes.

[000517] Por lo tanto, también se proporcionan células diseñadas genéticamente que expresan los receptores recombinantes que contienen los anticuerpos, por ejemplo, células que contienen receptores CAR. Las células en general

son células eucariotas, tal como células de mamífero, y habitualmente son células humanas. En algunas modalidades, las células se derivan de la sangre, médula ósea, linfa, bazo, u órganos linfoides, son células del sistema inmunitario, tal como células de la inmunidad innata o adaptativa, *por ejemplo,* células mieloides o linfoides, incluyendo los linfocitos, habitualmente células T y/o células NK. Otras células de ejemplo incluyen células madre, tal como células madre multipotentes y pluripotentes, incluyendo células madre pluripotentes inducidas (iPSC). Las células habitualmente son células primarias, tal como aquellas aisladas directamente de un sujeto y/o aisladas de un sujeto y congeladas. En algunas modalidades, las células incluyen uno o más subconjuntos de células T u otros tipos de células, tal como poblaciones de células T completas, células CD4+, células CD8+, y subpoblaciones de las mismas, tal como aquellas definidas por función, estado de activación, madurez, potencial para diferenciación, expansión, recirculación, ubicación, y/o capacidades de persistencia, especificidad de antígeno, tipo de receptor de antígeno, presencia en un compartimento u órgano particular, perfil de secreción de citocina o marcador, y/o grado de diferenciación. Con referencia al sujeto que se va a tratar, las células pueden ser alogénicas y/o autólogas. Entre los métodos se incluyen métodos disponibles en el mercado. En

determinados aspectos, tal como en el caso de las tecnologías disponibles, las células son pluripotentes y/o multipotentes, tales como las células madre, como por ejemplo las células madre pluripotentes inducidas (CMPi). En determinadas modalidades, los métodos incluyen el aislamiento de células del paciente, la preparación, el procesamiento, cultivo y/o ingeniería, tal como se describe en el presente documento, y su reintroducción en el mismo paciente, antes o después de la crioconservación.

[000518] Entre los subtipos y subpoblaciones de linfocitos T y/o de CD4+ y/o de linfocitos T CD8+ se encuentran los linfocitos T ingenuos (TN), los linfocitos T efectores (TEFF), los linfocitos T de memoria y los subtipos de los mismos, tales como la células madre T de memoria (TSCM), los linfocitos T de memoria central (TCM), los linfocitos T de memoria efectora (TEM), o los linfocitos T de memoria efectora diferenciadas terminalmente, los linfocitos infiltrantes tumorales (TIL), linfocitos T inmaduros, linfocitos T maduros, linfocitos T auxiliares, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T invariantes asociados a la mucosa (MAIT), linfocitos T reguladores (Treg) naturales y adaptativos, linfocitos T auxiliares, tales como los linfocitos TH1, linfocitos TH2, linfocitos TH3, linfocitos TH17, linfocitos TH9, linfocitos TH22, linfocitos T

auxiliares foliculares, linfocitos T alfa/beta, y linfocitos T delta/gamma.

[000519] En determinadas modalidades, las células son linfocitos citolíticos naturales (NK). En determinadas modalidades, las células son monocitos o granulocitos, por ejemplo, células mieloides, macrófagos, neutrófilos, dendritas, mastocitos, eosinófilos, y/o basófilos.

[000520] En determinadas modalidades, las células incluyen uno o más polinucleótidos introducidos por medio de ingeniería genética, y por lo tanto expresan productos recombinantes o genéticamente modificados de tales polinucleótidos. En determinadas modalidades, los polinucleótidos son heterólogos, es decir, normalmente no están presentes en una célula o muestra obtenida de la célula, tal como la obtenida de otro organismo o célula, que, por ejemplo, no se encuentra normalmente en la célula que se está en proceso de diseño y/o en un organismo del que se deriva esta célula. En determinadas modalidades, los polinucleótidos no están presentes de forma natural, tal como un polinucleótido que no se encuentra en la naturaleza, incluido uno que comprende combinaciones quiméricas de polinucleótidos que codifican varios dominios de varios tipos de células diferentes. En determinadas modalidades, las células (por ejemplo, las células diseñadas) comprenden un vector (por ejemplo, un vector vírico, un vector de

expresión, etc.) según se describe en este documento, tal como un vector que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor recombinante descrito en el presente.

A. Vectores y métodos para la ingeniería genética

[000521] También se proporcionan métodos, polinucleótidos, composiciones y kits para expresar los receptores recombinantes anti-GPRC5D (por ejemplo, receptores CAR), y para producir las células diseñadas genéticamente que expresan tales receptores. En determinadas modalidades, uno o más receptores recombinantes (por ejemplo, los receptores CAR) pueden ser diseñados genéticamente en células o en una pluralidad de células. La ingeniería genética generalmente implica la introducción de un ácido nucleico que codifica el/los componente(s) recombinantes o de ingeniería en la célula, tales como, mediante transducción lentivírica, transducción retrovírica, transfección o transformación.

[000522] En determinadas modalidades, la transferencia génica se realiza mediante un estímulo primero en la célula, tal como, la combinación con un estímulo que induce una respuesta como la proliferación, la sobrevida y/o la activación, por ejemplo, medida por la expresión de una citocina o un marcador de activación, seguida de la transducción de las células activadas, y la expansión del cultivo a un número suficiente para aplicaciones clínicas.

[000523] En determinados contextos, la expresión en exceso de un factor estimulante (por ejemplo, una linfoquina o una citocina) puede ser tóxica para un paciente. Por lo tanto, en algunos contextos, las células diseñadas incluyen segmentos de genes que hacen que las células sean susceptibles a la selección negativa in vivo, tal como en el caso de la administración en inmunoterapia adoptiva. Por ejemplo, en algunos aspectos, las células están diseñadas para que puedan eliminarse como resultado de un cambio en la condición in vivo del paciente al que se administran. El fenotipo seleccionable negativo puede ser el resultado de la inserción de un gen que confiere sensibilidad a un agente administrado, por ejemplo, un compuesto. Los genes seleccionables negativos incluyen el gen del virus del herpes simple de tipo I timidincinasa (HSV-I TK) (Wigler y col., Cell 2:223, 1977) que confiere sensibilidad al ganciclovir; el gen de la hipoxantina fosforibosiltransferasa celular (HPRT), el gen de la adenina fosforribosiltransferasa celular (APRT) y la desaminasa de citosina bacteriana (Mullen y col., Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 89:33 (1992)).

[000524] En determinados aspectos, las células están diseñadas además para promover la expresión de citosinas u otros factores. Varios métodos para la introducción de componentes diseñados genéticamente, por ejemplo, los receptores de antígenos, por ejemplo, los CAR, son bien

conocidos y pueden utilizarse con los métodos y composiciones proporcionados. Entre los métodos ejemplificativos se incluyen los de transferencia de polinucleótidos que codifican los receptores, incluidos los de transferencia vírica, por ejemplo, retrovírica o lentivírica, transducción, transposón y electroporación.

[000525] En determinadas modalidades, los polinucleótidos recombinantes se transfieren a las células por medio de partículas de virus infecciosos recombinantes, tales como, por ejemplo, vectores derivados del virus simio 40 (SV40), adenovirus, virus adenoasociado (AAV). En determinadas modalidades, los polinucleótidos recombinantes se transfieren a los linfocitos T por medio de vectores lentivíricos recombinantes, tal como los vectores lentivíricos basados en VIH-1. (lentivectores; véase, por ejemplo, Amado y col., Science. 1999 Jul 30;285(5428):674-676), o vectores retrovíricos, tales como los vectores gamma retrovíricos (véase, por ejemplo, Koste y col. (2014) Gene Therapy [Terapia génica] 2014 Abr 3. Doi: 10.1038/gt.2014.25; Carlens y col. (2000) Exp Hematol 28(10): 1137-46; Alonso-Camino y col. (2013) Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park et al., Trends Biotechnol [Tendencias de la biotecnología]. 2011 noviembre 29(11): 550-557).

[000526] En determinadas modalidades, el vector retrovírico o vector lentivírico tiene una secuencia de repetición

terminal larga (LRT). En determinadas modalidades, el vector se deriva del virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV), el virus del sarcoma mieloproliferativo (MPSV), el virus de las células madre embrionarias murinas (MESV), el virus de las células madre murinas (MSCV), el virus que forma el foco del bazo (SFFV), el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1), el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 2 (VIH-2/SIV) o el virus asociado a la adenopatía (VHA). En determinadas modalidades, los vectores son autoactivadores (SIN). En determinadas modalidades, los vectores son vectores condicionalmente replicantes (movilizables). La mayoría de los vectores lentivíricos se derivan de lentivirus humanos, felinos o simios. La mayoría de los vectores retrovíricos se derivan de retrovirus murinos. En determinadas modalidades, los lentivirus o retrovirus incluyen los derivados de cualquier fuente celular de aves o mamíferos. Los lentivirus o retrovirus suelen ser anfótropos, lo que significa que son capaces de infectar las células huéspedes de varias especies, incluidos los humanos. En una forma de modalidad, el gen a expresar reemplaza el gag retrovírico, las secuencias pol y/o env. Se conocen métodos de transducción lentivírica. Los métodos ejemplificativos se describen en, por ejemplo, Wang y col. (2012) J. Immunother [inmunoterapia]. 35(9): 689-701; Cooper y col. (2003) Blood [Sangre]. 101:1637–1644; Verhoeyen y col. (2009) Methods Mol Biol. 506: 97-114; and Cavalieri y

col. (2003) Blood. 102(2): 497-505. También se han descrito varios sistemas retrovirales ilustrativos (por ejemplo, Amado y col., (1999) Science [Ciencia] 285(5428):674-676, EE. UU. Pat. Nos. 5,219,740; 6,207,453; 5,219,740; Miller y Rosman (1989) BioTechniques [Biotécnicas] 7:980-990; Miller (1990) Human Gene Therapy [Terapia génica humana] 1:5-14; Scarpa y col. (1991) Virology 180:849-852; Burns y col. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. EUA, 90:8033-8037; y Boris-Lawrie y Temin (1993) Cur. Opin. Genet. Develop. 3:102-109).

[000527] En determinadas modalidades, los polinucleótidos recombinantes se transfieren a los linfocitos T mediante electroporación (véase por ejemplo, Chicaybam y col (2013) PLoS ONE 8(3): e60298 y Van Tedeloo y col. (2000) Gene Therapy [Terapia génica] 7(16): 1431-1437). En determinadas modalidades, los polinucleótidos recombinantes se transfieren a los linfocitos T a través de transposición (véase, por ejemplo, Manuri y col. (2010) Hum Gene Ther 21(4): 427-437; Sharma y col. (2013) Molec Ther Nucl Acids 2, e74; y Huang y col. (2009) Methods Mol Biol 506: 115-126). Otros métodos para introducir y expresar material genético en las células inmunitarias incluyen la transfección de fosfato de calcio (por ejemplo, como se describe en los Protocolos Actuales de Biología Molecular, John Wiley & Sons, Nueva York. N.Y.), fusión de protoplastos, transfección mediada por liposomas catiónicos; bombardeo de micropartículas facilitado por

partículas de tungsteno (Johnston (1990) Nature 346: 776-777); y coprecipitación de ADN en fosfato estroncio (Brash y col., (1987) Mol. Cell Biol.7: 2031-2034). Otros enfoques y vectores para la transferencia de los polinucleótidos que codifican los productos recombinantes son los descritos, por ejemplo, en la solicitud internacional de patente, Publicación núm.: WO2014055668, y Patente de Estados Unidos de América No. 7,446,190.

[000528] Entre los polinucleótidos adicionales, por ejemplo, los genes de introducción son los que mejoran el resultado de la terapia, tal como, por medio de la estimulación de la viabilidad y/o la función de las células transferidas; los genes que proporcionan un marcador genético para la selección y/o evaluación de las células, tal como, para evaluar la sobrevida in vivo o la localización; los genes que mejoran la seguridad, por ejemplo, al hacer que la célula sea susceptible a la selección negativa in vivo, tal como lo describe Lupton S. D y col., ., Mol. y Cell Biol. 11:6 (1991); y Riddell y col., Human Gene Therapy [Terapia génica humana] 3:319-338 (1992); véanse también las publicaciones de PCT/EE. UU91/08442 y PCT/EE. UU94/05601 de Lupton y col. en las que se describe el uso de genes de fusión seleccionables bifuncionales derivados de la fusión de un marcador positivo seleccionable dominante con un marcador negativo

seleccionable. Véase, por ejemplo, Riddell y col., Patente de EE. UU núm. 6,040,177, en las columnas 14 a 17.

[000529] En determinadas modalidades, uno o más receptores recombinantes (por ejemplo, los receptores CAR) pueden ser diseñados genéticamente para expresarse en células o en una pluralidad de células. En determinadas modalidades, un primer receptor recombinante y una segunda molécula de unión, por ejemplo, un receptor recombinante, están codificados por las mismas moléculas o por moléculas separadas de ácido nucleico. En determinadas modalidades, se diseñan ligandos adicionales para que se expresen en células o en una pluralidad de células. En determinadas modalidades, la segunda molécula de unión es un receptor anti-BCMA, tal como un CAR anti-BCMA descrito en la presente o en WO 2013/154760, WO 2015/052538, WO 2015/090229, WO 2015/092024, WO 2015/158671, WO 2016/014565, WO 2016/014789, WO 2016/094304, WO 2016/166630, WO 2017/021450, WO 2017/083511, WO 2017/130223, WO 2017/211900, WO 2018/085690, WO 2018/028647.

[000530] En determinadas modalidades, el vector o constructo puede contener un promotor y/o potenciador o elementos reguladores para regular la expresión del receptor recombinante codificado. En determinados ejemplos, el promotor y/o reforzador o los elementos reguladores pueden ser promotores, reforzadores y/o elementos reguladores dependientes de la condición. En determinados ejemplos, estos

elementos impulsan la expresión del transgén. En determinados ejemplos, el transgén CAR puede ser enlazado operativamente a un promotor, tal como un promotor EF1alpha con un potenciador HTLV1 (SEQ ID n.°: 61). En determinados ejemplos, el transgén CAR está enlazado operativamente a un Elemento Regulador Postranscripcional (WPRE) del Virus de la Hepatitis de la Marmota (WHP) (SEQ ID n.°: 62), localizado corriente abajo del transgén.

[000531] En determinadas modalidades, el vector o constructo puede contener un solo promotor que impulsa la expresión de una o más moléculas de ácido nucleico. En determinadas modalidades, tales moléculas de ácido nucleico, por ejemplo, transcripciones, pueden ser multicistrónicas (bicistrónicas o tricistrónicas, véase por ejemplo, Patente de EE. UU. núm. 6,060,273). P. ej., en determinadas modalidades, las unidades de transcripción pueden diseñarse como unidades bicistrónicas que contienen un IRES (sitio interno de entrada de ribosomas), que permite la coexpresión de productos génicos (por ejemplo, la codificación de un primer y segundo receptor quimérico) mediante un mensaje de un único promotor. P. ej., En determinadas modalidades, el vector o constructo puede contener un ácido nucleico que codifica un receptor anti-GPRC5D (por ejemplo, un CAR anti-GPRC5D) proporcionado en la presente y un ácido nucleico que codifica un receptor anti-

BCMA (por ejemplo, un CAR anti-BCMA), separado por un IRES, bajo la regulación de un único promotor.

[000532] Alternativamente, en algunos casos, un solo promotor puede dirigir la expresión de un ARN que contiene, en una sola estructura abierta (ORF), dos o tres genes (por ejemplo, al codificar una primera y segunda molécula de unión, por ejemplo, un receptor recombinante de anticuerpos) separados entre sí por secuencias que codifican un péptido de autoescisión (por ejemplo, secuencias de escisión 2A) o un sitio de reconocimiento de proteasa (por ejemplo, Furina). La ORF codifica de esta manera un único polipéptido que, ya sea durante (en el caso del T2A) o después de la traducción, se separa en las proteínas individuales. En determinados casos, el péptido, como el T2A, puede hacer que el ribosoma saltea (pausado del ribosoma) la síntesis de un enlace peptídico en el terminal C de un elemento 2A, y lleva a la separación entre el final de la secuencia 2A y el siguiente péptido corriente abajo (véase, por ejemplo, de Felipe. Genetic Vaccines and Ther [Vacunas y Ter. Génica]. 2:13 (2004) y deFelipe y col. Traffic 5:616-626 (2004)). Se conocen muchos elementos 2A. Ejemplos de secuencias de 2A que pueden utilizarse en los métodos y polinucleótidos revelados en la presente, entre otros, las secuencias de 2A del virus de la fiebre aftosa (F2A, por ejemplo, SEQ ID n.°: 42 o 43), virus de la rinitis equina A (E2A, por ejemplo, SEQ ID n.°: 40 o

41), virus de Thosea asigna (T2A, por ejemplo, SEQ ID n.°: 35, 36, o 37), y teschovirus porcino-1 (P2A, por ejemplo, SEQ ID n.°: 38 o 39) según se describen en la patente de EE. UU, Publicación núm. 20070116690. En determinadas modalidades, uno o más promotores diferentes o separados impulsan la expresión de una o más moléculas de ácido nucleico que codifican una o más ligandos, por ejemplo, los receptores recombinantes.

[000533] Cualquiera de los receptores recombinantes proporcionados en la presente, por ejemplo, los receptores recombinantes anti-GPRC5D y/o los receptores recombinantes adicionales, pueden ser codificados por polinucleótidos que contengan una o más moléculas de ácido nucleico que codifican los receptores, en cualquier combinación o disposición. Por ejemplo, uno, dos, tres o más polinucleótidos pueden codificar uno, dos, tres o más receptores o dominios diferentes. En determinadas modalidades, un vector o constructo contiene moléculas de ácido nucleico que codifican uno o más receptores recombinantes, y un vector o constructo separado contiene moléculas de ácido nucleico que codifican una molécula de unión adicional, por ejemplo, anticuerpos y/o receptores recombinantes, tal como un receptor anti-BCMA (por ejemplo, CAR anti-BCMA). Cada una de las moléculas de ácido nucleico también puede codificar uno o más marcadores sustitutos, como la proteína fluorescente (por ejemplo, la

proteína fluorescente verde [GFP]) o un marcador de superficie celular (por ejemplo, un marcador de superficie truncado tal como el EGFR truncado (tEGFR), que puede utilizarse para confirmar la transducción o el diseño de la célula para expresar el receptor. Por ejemplo, en determinados aspectos, los genes marcadores extrínsecos se utilizan en relación con las terapias celulares de ingeniería para permitir la detección o selección de células y, en algunos casos, también para promover el suicidio celular por ADCC. Los genes marcadores ejemplificativos incluyen el receptor del factor de crecimiento epidérmico truncado (EGFRt), que puede coexpresarse con un transgén de interés (por ejemplo, un CAR o TCR) en las células transductoras (véase, por ejemplo, patente de EE. UU. núm. 8,802,374). EGFRt contiene un epítopo reconocido por el anticuerpo cetuximab (Erbitux®). Por esta razón, Erbitux® puede utilizarse para identificar o seleccionar células que han sido diseñadas con el constructo EGFRt, incluidas en células también diseñadas conjuntamente con otro receptor recombinante, tal como un receptor de antígeno quimérico (CAR).

[000534] En determinadas modalidades, el marcador es una molécula, por ejemplo, la proteína de superficie de la célula, que no se encuentra naturalmente en los linfocitos T

o que no se encuentra naturalmente en la superficie de los linfocitos T, o en una porción de estos.

[000535] En algunas modalidades, la molécula es una molécula no propia, por ejemplo, proteína no propia, es decir, una que no se reconoce como "propia" por el sistema inmunitario del hospedador en el cual se transferirán adoptivamente las células.

[000536] En algunas modalidades, el marcador no sirve ninguna función terapéutica y/o no produce ningún efecto distinto del que se va a utilizar como un marcador para la modificación genética, por ejemplo, para seleccionar células que se han modificado exitosamente. En otras modalidades, el marcador puede ser una molécula terapéutica o molécula que ejerce de otra manera algún efecto deseado, tal como un ligando para una célula que se encuentra in vivo, tal como una molécula coestimulante o de punto de control inmunitario para mejorar y/o amortiguar las respuestas de las células después de la transferencia adoptiva y el encuentro con el ligando.

[000537] También se proporcionan composiciones que contienen una o más de las moléculas, vectores o construcciones de ácido nucleico, tales como las descritas anteriormente. En determinadas modalidades, las moléculas de ácido nucleico, vectores, construcciones o composiciones pueden utilizarse para diseñar células, tales como los linfocitos T, para

expresar cualquiera de los ligandos, por ejemplo, anticuerpos o receptores recombinantes, y/o los ligandos adicionales.

B. Preparación de células para diseño

[000538] En determinadas modalidades, la preparación de las células artificiales incluye uno o más cultivos y/o pasos de preparación. Las células para la introducción del receptor recombinante (por ejemplo, el receptor CAR) pueden aislarse de una muestra, como una muestra biológica, por ejemplo, una obtenida de un sujeto o derivada del sujeto. En determinadas modalidades, el sujeto del cual se aísla la célula es aquel que tiene la enfermedad o patología o que necesita una terapia celular o al cual se le administrará la terapia celular. El sujeto, en determinadas modalidades, es un ser humano que necesita una intervención terapéutica en particular, tal como la terapia celular adoptiva para la cual las células se aíslan, procesan y/o diseñan.

[000539] Por consiguiente, las células En determinadas modalidades son células primarias, por ejemplo, células humanas primarias. Las muestras incluyen tejidos, fluidos y otras muestras tomadas directamente del sujeto, así como muestras resultantes de uno o más pasos de procesamiento, tales como separación, centrifugación, ingeniería genética (por ejemplo, transducción con vector vírico), lavado y/o incubación. La muestra biológica puede ser una muestra obtenida directamente de una fuente biológica o una muestra

procesada. Las muestras biológicas incluyen, entre otras, fluidos corporales, como sangre, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, orina y sudor, muestras de tejidos y órganos, incluidas las muestras procesadas derivadas de ellos.

[000540] En algunos aspectos, la muestra de la cual se derivan o aíslan las células es sangre o una muestra derivada de sangre, o es o se deriva de un producto de aféresis o leucaféresis. Las muestras de ejemplo incluyen sangre completa, células mononucleares de sangre periférica (PBMC), leucocitos, médula ósea, timo, biopsia de tejido, tumor, leucemia, linfoma, ganglio linfático, tejido linfoide asociado al intestino, tejido linfoide asociado a la mucosa, bazo, otros tejidos linfoides, hígado, pulmón, estómago, intestino, colon, riñón, páncreas, mama, hueso, próstata, cuello uterino, testículos, ovarios, amígdala, u otro órgano, y/o células derivadas de los mismos. Las muestras incluyen, en el contexto de terapia celular, por ejemplo, terapia celular adoptiva, muestras de fuentes autólogas y alogénicas.

[000541] En algunas modalidades, las células se derivan de líneas celulares, por ejemplo, líneas de células T. Las células de determinadas modalidades se obtienen a partir de una fuente xenogénica, por ejemplo, de ratón, rata, primate no humano o cerdo.

[000542] En algunas modalidades, el aislamiento de las células incluye uno o más pasos de separación de células no basada en afinidad y/o de preparación. En algunos ejemplos, las células se lavan, se centrifugan, y/o se incuban en la presencia de uno o más reactivos, por ejemplo, para remover componentes no deseados, enriquecer para componentes deseados, listar o remover células sensibles a reactivos particulares. En algunos ejemplos, las células se separan con base en una o más propiedades, tal como densidad, propiedades adherentes, tamaño, sensibilidad y/o resistencia a componentes particulares.

[000543] En algunos ejemplos, las células de la sangre circulante de un sujeto se obtienen, por ejemplo, por aféresis o leucaféresis. Las muestras, en algunos aspectos, contienen linfocitos, incluyendo células T, monocitos, granulocitos, células B, otros glóbulos blancos nucleados, glóbulos rojos, y/o plaquetas, y en algunos aspectos contienen células distintas de glóbulos rojos y plaquetas.

[000544] En algunas modalidades, las células de sangre recolectadas del sujeto se lavan, por ejemplo, para remover la fracción de plasma y para colocar las células en un agente amortiguador o medio apropiado para pasos de procesamiento posteriores. En algunas modalidades, las células se lavan con solución salina amortiguada con fosfato (PBS). En algunas modalidades, la solución de lavado carece de calcio y/o

magnesio y/o muchos o todos los cationes divalentes. En algunos aspectos, un paso de lavado se completa por un centrífuga de "flujo continuo" semiautomatizada (por ejemplo, el procesador de células Cobe 2991, Baxter) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En algunos aspectos, un paso de lavado se completa por filtración de flujo tangencial (TFF) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En algunas modalidades, las células se vuelven a suspender en una variedad de agentes amortiguadores biocompatibles después del lavado, tal como, por ejemplo, PBS libre de Ca++/Mg++. En ciertas modalidades, los componentes de una muestra de células de sangre se remueven y las células se vuelven a suspender directamente en medios de cultivo.

[000545] En algunas modalidades, los métodos incluyen métodos de separación de células basada en densidad, tal como la preparación de glóbulos blancos de sangre periférica por lisado de los glóbulos rojos y centrifugación a través de una gradiente de Percoll o Ficoll.

[000546] En algunas modalidades, los métodos de aislamiento incluyen la separación de diferentes tipos de células con base en la expresión o presencia en la célula de una o más moléculas específicas, tal como marcadores de superficie, por ejemplo, proteínas de superficie marcadores intracelulares, o ácido nucleico. En algunas modalidades, se puede utilizar cualquier método conocido para la separación con base en

estos marcadores. En algunas modalidades, la separación es separación basada en afinidad o inmunoafinidad. Por ejemplo, el aislamiento en algunos aspectos incluye la separación de células y poblaciones de célula con base en la expresión de células o el nivel de expresión de uno o más marcadores, habitualmente marcadores de superficie celular, por ejemplo, por incubación con un anticuerpo o compañero de unión que se une en específico a estos marcadores, seguido en general por pasos de lavado y separación de células que se han unido al anticuerpo o compañero de unión, de aquellas células que no se han unido al anticuerpo o compañero de unión.

[000547] Estos pasos de separación pueden ser con base en la selección positiva, en la cual las células que se han unido a los reactivos se retienen para uso adicional, y/o selección negativa, en la cual se retienen las células que no se han unido al anticuerpo o compañero de unión. En algunos ejemplos, ambas fracciones se retienen para uso adicional. En algunos aspectos, la selección negativa puede ser en particular útil donde ningún anticuerpo está disponible que identifique en específico un tipo de célula en una población heterogénea, tal que la separación se lleve a cabo mejor con base en marcadores expresados por células distintas de la población deseada.

[000548] La separación no tiene por qué dar lugar a un enriquecimiento del 100 % o a la remoción de una población

celular concreta o de células que expresen un marcador concreto. Por ejemplo, la selección positiva de, o el enriquecimiento para células de un tipo particular, tal como aquellas que expresan un marcador, se refiere a incrementar el número o porcentaje de estas células, pero no necesitan dar por resultado una ausencia completa de células que no expresan el marcador. De manera similar, la selección negativa, remoción, o agotamiento de células de un tipo particular, tal como aquellas que expresan un marcador, se refiere a disminuir el número o porcentaje de estas células, pero no necesitan dar por resultado una remoción completa de todas estas células.

[000549] En algunos ejemplos, se llevan a cabo múltiples rondas de pasos de separación, donde la fracción positivamente o de manera negativa seleccionada de un paso se somete a otro paso de separación, tal como una selección positiva o negativa posterior. En algunos ejemplos, un paso de separación individual puede agotar células que expresan múltiples marcadores simultáneamente, tal como al incubar células con una pluralidad de anticuerpos o compañeros de unión, cada uno específico para un marcador tomado como diana para la selección negativa. De manera similar, múltiples tipos de células se pueden seleccionar de manera simultánea positivamente al incubar células con una pluralidad de

anticuerpos o compañeros de unión expresados en los diversos tipos de células.

[000550] P. ej., en algunos aspectos, subpoblaciones específicas de linfocitos T, tales como células positivas o que expresan altos niveles de uno o más marcadores de superficie, por ejemplo, los linfocitos T CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+ y/o CD45RO+, están aislados por técnicas de selección positiva o negativa.

[000551] P. ej., los linfocitos T CD3+, CD28+ pueden seleccionarse positivamente por medio de perlas magnéticas conjugadas de CD3/CD28 (por ejemplo, el ensanchador de linfocitos T de DYNABEADS® M-450 CD3/CD28, MACSiBeads™, etc.).

[000552] En determinadas modalidades, el aislamiento se lleva a cabo mediante el enriquecimiento de una población celular específica mediante la selección positiva, y/o la disminución de una población celular específica mediante la selección negativa. En determinadas modalidades, la selección positiva o negativa se logra por medio de la incubación de células con uno o más anticuerpos u otro agente aglutinante que se unen específicamente a uno o más marcadores de superficie expresados o que se expresan (marker+) a un nivel relativamente más alto (markerhigh) en las células seleccionadas positiva o negativamente, respectivamente.

[000553] En algunas modalidades, las células T se separan de una muestra de PBMC por selección negativa de marcadores expresados en células no T, tal como células B, monocitos, u otras células de glóbulos blancos, tal como CD14. En algunos aspectos, un paso de selección de CD4+ o CD8+ se utiliza para separar células T citotóxicas CD8+ y auxiliares CD4+. Estas poblaciones de CD4+ y CD8+ se pueden clasificar adicionalmente en subpoblaciones por selección positiva o negativa para marcadores expresados o expresados a un grado relativamente más alto en una o más subpoblaciones de células T efectoras, de memoria, y/o sin tratamiento previo.

[000554] En determinadas modalidades, las células CD8+ se enriquecen aún más o se agotan de células madre ingenuas, de memoria central, de memoria efectora y/o de memoria central, tales como, mediante una selección positiva o negativa en función de los antígenos de superficie asociados con la subpoblación respectiva. En determinadas modalidades, el enriquecimiento de los linfocitos T (TCM) de la memoria central se lleva a cabo para aumentar ciertas características, tales como mejorar la sobrevida a largo plazo, la expansión y/o el injerto funcionante después de la administración, que en ciertos aspectos es particularmente robusto en tales subpoblaciones (ver Terakura y col. (2012) Blood.1:72–82; Wang y col. (2012) J Immunother. 35(9):689-701). En determinadas modalidades, la combinación de

linfocitos T CD8+ enriquecidos con TCM y linfocitos T CD4+ mejora aún más la respuesta.

[000555] En las modalidades, las células T de memoria están presentes en subconjuntos de tanto CD62L+ como CD62L- de linfocitos de sangre periférica CD8+. Las PBMC se pueden enriquecer para, o se pueden agotar de fracciones de CD62L-$CD8^+$ y/o CD62L+CD8+, tal como utilizando anticuerpos anti-CD8 y anti-CD62L.

[000556] En algunas modalidades, el enriquecimiento para las células T de memoria central (TCM) es con base en la alta expresión superficial o positiva de CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3, y/o CD127; en algunos aspectos, es con base en la selección negativa para células que expresan o que expresan altamente CD45RA y/o granzima B. En algunos aspectos, el aislamiento de una población de CD8+ enriquecida para células TCM se lleva a cabo por agotamiento de células que expresan CD4, CD14, CD45RA, y la selección positiva o enriquecimiento para células que expresan CD62L. En un aspecto, el enriquecimiento para células T de memoria central (TCM) se lleva a cabo iniciando con una fracción negativa de células seleccionadas con base en la expresión de CD4, que se somete a una selección negativa con base en la expresión de CD14 y CD45RA, y una selección positiva con base en CD62L. Estas selecciones en algunos aspectos se llevan a cabo simultáneamente y en otros aspectos se llevan a cabo

secuencialmente, en cualquier orden. En determinados aspectos, el mismo paso de selección basado en la expresión de CD4 utilizado en la preparación de la población o subpoblación de células CD8+ también se utiliza para generar la población o subpoblación de células CD4+, de modo que tanto las fracciones positivas como las negativas de la separación basada en CD4 se conservan y se utilizan en los pasos subsiguientes de los métodos, siguiendo opcionalmente uno o más pasos de selección positivos o negativos.

[000557] En un ejemplo particular, una muestra de las PBMC u otra muestra de glóbulos blancos se somete a la selección de células CD4+, donde se retienen tanto las fracciones negativas como las positivas. La fracción negativa se somete entonces a una selección negativa basada en la expresión de CD14 y CD45RA, y a una selección positiva basada en un marcador característico de los linfocitos T de la memoria central, tales como CD62L o CCR7, donde las selecciones positiva y negativa se llevan a cabo en cualquier orden.

[000558] Los linfocitos T auxiliares CD4+ T se clasifican en células ingenuas, de memoria central y efectoras mediante la identificación de poblaciones celulares que tienen antígenos en la superficie celular. Los linfocitos CD4+ pueden obtenerse mediante métodos estándar. En determinadas modalidades, los linfocitos T CD4+ ingenuos son los linfocitos T CD45RO-, CD45RA+, CD62L+, CD4+. En determinadas

modalidades, las células CD4+ de memoria central son CD62L+ y CD45RO+. En determinadas modalidades, las células efectoras CD4+ son CD62L- y CD45RO-.

[000559] En un ejemplo, para enriquecer las células CD4+ por selección negativa, un cóctel de anticuerpos monoclonales típicamente incluye anticuerpos contra CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR y CD8. En determinadas modalidades, el anticuerpo o la molécula de unión se une a un soporte sólido o a una matriz, como una perla magnética o paramagnética, para permitir la separación de células para la selección positiva y/o negativa. Por ejemplo, en determinadas modalidades, las células y las poblaciones celulares se separan o se aíslan por medio de técnicas de separación inmunomagnéticas (o afinidad magnética) (revisado en Methods in Molecular Medicine [Métodos en medicina molecular], vol. 58): Metastasis Research Protocols [Protocolos de investigación de metástasis], Vol. 2: Comportamiento celular in vitro e in vivo, p 17-25 Editado por: S. A. Brooks y U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

[000560] En determinados aspectos, la muestra o composición de las células a separar se incuba con material pequeño, magnetizable o de respuesta magnética, como partículas o micropartículas de respuesta magnética, como perlas paramagnéticas (por ejemplo, tales como las perlas Dynabeads® o MACS®). El material que responde magnéticamente, por

ejemplo, una partícula, generalmente se une directa o indirectamente a una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, que se une específicamente a una molécula, por ejemplo, un marcador de superficie, presente en la célula, células o población de células que se desea separar, por ejemplo, que se desea seleccionar de manera negativa o positiva.

[000561] En determinadas modalidades, la partícula magnética o perla comprende un material de respuesta magnética unido a un miembro de unión específico, tal como un anticuerpo u otra molécula de unión. Hay muchos materiales bien conocidos que responden magnéticamente y que se utilizan en los métodos de separación magnética. Las partículas magnéticas adecuadas incluyen las descritas en Molday, patente de EE: UU. núm. 4,452,773, y en la Especificación de la Patente Europea EP 452342 B, que por la presente se incorporan como referencia. Las partículas de tamaño coloidal, tal como aquellas descritas en Owen, Patente de Estados Unidos de América núm. 4,795,698, y Liberti y col. patente de EE. UU. núm. 5,200,084, y otros ejemplos.

[000562] La incubación se lleva a cabo por lo general en condiciones en las que los anticuerpos o los ligandos, o moléculas, como los anticuerpos secundarios u otros reactivos, que se unen específicamente a dichos anticuerpos o ligandos, que están unidos a la partícula o microesfera

magnética, se unen específicamente a las moléculas de la superficie celular si están presentes en las células de la muestra.

[000563] En ciertos aspectos, la muestra se coloca en un campo magnético, y aquellas células que tienen partículas magnéticamente sensibles o magnetizables adheridas al mismo serán atraídas al imán y separadas de las células no etiquetadas. Para la selección positiva, se retienen las celdas que son atraídas al imán; para la selección negativa, se retienen las células que no son atraídas (células no etiquetadas). En determinados aspectos, se realiza una combinación de selección positiva y negativa durante la misma etapa de selección, en la que las fracciones positiva y negativa se retienen y se procesan o se someten a otras etapas de separación.

[000564] En ciertas modalidades, las partículas magnéticamente sensibles están recubiertas de anticuerpos primarios u otros elementos de unión, anticuerpos secundarios, lectinas, enzimas o estreptavidina. En ciertas modalidades, las partículas magnéticas se unen a células mediante un revestimiento de anticuerpos primarios específicos para uno o más marcadores. En ciertas modalidades, las células, en lugar de las cuentas, se etiquetan con un anticuerpo primario o compañero de unión, y entonces se adicionan partículas magnéticas revestidas con

anticuerpo secundario específico tipo célula u con otro compañero de unión (por ejemplo, estreptavidina). En ciertas modalidades, las partículas magnéticas revestidas con estreptavidina se utilizan en conjunto con anticuerpos primarios o secundarios biotinilados.

[000565] En algunas modalidades, las partículas magnéticamente sensibles se dejan unidas a las células que se van a incubar, cultivar y/o modificar posteriormente; en algunos aspectos, las partículas se dejan unidas a las células para administración a un paciente. En algunas modalidades, las partículas magnetizables o magnéticamente sensibles se remueven de las células. Los métodos para eliminar las partículas magnetizables de las células son conocidos e incluyen, por ejemplo, el uso de anticuerpos no marcados contrapuestos, partículas magnetizables o anticuerpos conjugados con ligandos escindibles, etc. En algunas modalidades, las partículas magnetizables son biodegradables.

[000566] En algunas modalidades, la selección basada en la afinidad se realiza mediante la clasificación de células activadas por magnetismo (MACS®) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Los sistemas de clasificación de células activadas por magnetismo (MACS®) son capaces de realizar una selección de células de alta pureza que tienen partículas magnetizadas adheridas. En algunas modalidades, MACS® funciona de un modo

en el que las especies diana y no diana son eludidas secuencialmente después de la aplicación del campo magnético externo. Es decir, las células unidas a partículas magnetizadas se retienen en su lugar en tanto que las especies no unidas se eluyen. Entonces, después de que se completa este primer paso de elución, las especies que se atraparon en el campo magnético y se impidió que se eluyeran se liberan de alguna manera tal que se puedan eludir y recuperar. En ciertas modalidades, las células no diana se etiquetan y se agotan de la población heterogénea de células.

[000567] En ciertas modalidades, el aislamiento o separación se lleva a cabo utilizando un sistema, dispositivo, o aparato que lleva a cabo uno o más de los pasos de formulación, aislamiento, separación, procesamiento, incubación, cultivo, y/o preparación de células de los métodos. En algunos aspectos, el sistema se utiliza para llevar a cabo cada uno de estos pasos en un entorno cerrado o estéril, por ejemplo, para reducir al máximo el error, el manejo del usuario y/o la contaminación. En un ejemplo, el sistema es un sistema como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO2009/072003, o US 20110003380 A1.

[000568] En algunas modalidades, el sistema o aparato lleva a cabo uno o más, por ejemplo, todos los pasos de aislamiento, procesamiento, modificación, y formulación en un sistema integrado o autocontenido, y/o de una forma

automatizada o programable. En algunos aspectos, el sistema o aparato incluye una computadora y/o programa de computadora en comunicación con el sistema o aparato, que permite que un usuario programe, controle, evalúe el resultado de, y/o ajuste varios aspectos de los pasos de procesamiento, aislamiento, modificación, y formulación.

[000569] En algunos aspectos, los pasos de separación y/u otros pasos se llevan a cabo mediante el uso del sistema CliniMACS® (Miltenyi Biotec), por ejemplo, para la separación automática de células en un nivel a escala clínica, en un sistema cerrado y estéril. Los componentes pueden incluir una microcomputadora integrada, unidad de separación magnética, bomba peristáltica, y varias válvulas de pellizco. La computadora integrada en algunos aspectos controla todos los componentes del instrumento y dirige el sistema para realizar procedimientos repetidos en una secuencia estandarizada. La unidad de separación magnética en algunos aspectos incluye un imán permanente movible y un retenedor para la columna de selección. La bomba peristáltica controla la velocidad de flujo de principio a fin del conjunto de tubería y, junto con las válvulas de pellizco, asegura el flujo controlado de agente amortiguador a través del sistema y la suspensión continua de las células.

[000570] El sistema CliniMACS® en algunos aspectos utiliza partículas magnetizables acopladas a anticuerpos que se

suministran en una solución estéril, apirógena. En algunas modalidades, después del etiquetado de células con partículas magnéticas, las células se lavan para remover el exceso de partículas. Una bolsa de preparación de células entonces se conecta al conjunto de tubería, que a su vez se conecta a una bolsa que contiene agente amortiguador y una bolsa de recolección de células. El conjunto de tubería consta de tubería estéril premontada, que incluye una precolumna y una columna de separación, y están para uso individual solamente. Después del inicio del programa de separación, el sistema aplica automáticamente la muestra de célula en la columna de separación. Las células etiquetadas se retienen dentro de la columna, en tanto que las células no etiquetadas se remueven por una serie de pasos de lavado. En algunas modalidades, las poblaciones de células para uso con los métodos descritos en la presente están sin etiquetar y no se retienen en la columna. En algunas modalidades, las poblaciones de células para uso con los métodos descritos en la presente se etiquetan y se retienen en la columna. En algunas modalidades, las poblaciones de células para uso con los métodos descritos en la presente se eluyen de la columna después de la remoción del campo magnético, y se recolectan dentro de la bolsa de recolección de células.

[000571] En ciertas modalidades, se llevan a cabo los pasos de separación y/u otros pasos mediante el uso del sistema

CliniMACS Prodigy® (Miltenyi Biotec). El sistema CliniMACS Prodigy® en algunos aspectos está equipado con una unidad de procesamiento de células que permite el lavado y el fraccionamiento automático de las células mediante centrifugación. El sistema CliniMACS Prodigy® también puede incluir una cámara integrada y un software de reconocimiento de imágenes que determina la variable de fraccionamiento de célula óptimo mediante la distinción de las capas macroscópicas del producto celular fuente. Por ejemplo, la sangre periférica se puede separar automáticamente en capas de eritrocitos, glóbulos blancos y plasma. El sistema CliniMACS Prodigy® también puede incluir una cámara de cultivo celular integrada que cumple con los protocolos de cultivo celular, como por ejemplo, la diferenciación y expansión celular, la carga de antígenos y el cultivo celular a largo plazo. Los puertos de entrada pueden permitir la eliminación y la recarga estéril del medio y se pueden monitorear las células mediante el uso de un microscopio integrado (consulte, por ejemplo, Klebanoff et al. (2012) J Immunother. 35(9): 35(9): 651–660, Terakura et al. (2012) Blood.1:72–82, and Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701).

[000572] En algunas modalidades, se recoge una población de células como las descritas aquí y se las enriquece (o reduce) mediante citometría de flujo, en cuyo proceso se llevan las

células teñidas para distintos marcadores de superficie celular a una corriente fluídica. En algunas modalidades, se recoge una población de células como las descritas aquí y se la enriquece (o reduce) mediante una clasificación de escala de preparación (FACS). En ciertas modalidades, se recoge una población de células como las descritas aquí y se la enriquece (o reduce) mediante el uso de chips de sistemas microelectromecánicos (MEMS) en combinación con un sistema de detección basado en FACS (consulte, por ejemplo, WO 2010/033140, Cho et al. (2010) Lab Chip 10, 1567-1573; y Godin et al. (2008) J Biophoton. 1(5):355–376. En ambos casos, se pueden marcar las células con varios marcadores, lo que permite el aislamiento de subgrupos bien definidos de linfocitos T de pureza alta.

[000573] En algunas modalidades, los anticuerpos o compañeros de unión se etiquetan con uno o más marcadores detectables, para facilitar la separación para selección positiva y/o negativa. Por ejemplo, la separación puede ser con base en la unión a anticuerpos fluorescentemente etiquetados. En algunos ejemplos, la separación de células con base en la unión de anticuerpos u otros compañeros de unión específicos para uno o más marcadores de superficie celular se portan en una corriente fluídica, tal como por clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), incluyendo escala preparatoria (FACS) y/o chips de sistemas

microelectromecánicos (MEMS), por ejemplo, en combinación con un sistema de detección de flujo citométrico. Estos métodos permiten la selección positiva y negativa con base en múltiples marcadores simultáneamente.

[000574] En algunas modalidades, los métodos de preparación incluyen pasos para congelación, por ejemplo, crioconservación, de las células, ya sea antes o después del aislamiento, incubación, y/o modificación. En algunas modalidades, el paso de congelación y el paso de descongelación posterior remueven los granulocitos y, en algún grado, los monocitos en la población de células. En algunas modalidades, las células se suspenden en una solución de congelación, por ejemplo, después de un paso de lavado para remover el plasma y plaquetas. Se puede utilizar cualquiera de una variedad de parámetros y soluciones de congelación conocidas en algunos aspectos. Un ejemplo incluye el uso de PBS que contiene DMSO al 20% y albúmina sérica humana (HSA) al 8% u otro medio de congelación celular adecuado. Esto luego se diluye 1:1 con un medio, para que la concentración final del DMSO y la HSA sea del 10% y el 4%, respectivamente. Luego se congelan las células a −80 °C, a un ritmo de 1 °C por minuto y se las almacena en la fase de vapor de un tanque de almacenamiento de nitrógeno líquido.

[000575] En algunas modalidades, los métodos proporcionados incluyen la cultivación, incubación, cultivo, y/o pasos

modificación genética. Por ejemplo, en algunas modalidades, se proporcionan métodos para incubar y/o manipular las poblaciones de células agotadas y composiciones de inicio de cultivo.

[000576] Así, en algunas modalidades, las poblaciones de células se incuban en una composición de comienzo de cultivo. La incubación y/o modificación se puede llevar a cabo en un recipiente de cultivo, tal como una unidad, cámara, concavidad, columna, tubo, conjunto de tubería, válvula, frasco, placa de cultivo, bolsa, u otro recipiente para cultivo o para cultivar células.

[000577] En algunas modalidades, las células se incuban y/o se cultivan antes de, o con relación a la modificación genética. Los pasos de incubación pueden incluir cultivo, cultivación, estimulación, activación, y/o propagación. En algunas modalidades, las composiciones o células se incuban en la presencia de condiciones de estimulación o un agente estimulante. Estas condiciones incluyen aquellas designadas para inducir la proliferación, expansión, activación, y/o supervivencia de células en la población, para imitar la exposición a antígeno, y/o para cebar las células para modificación genética, tal como para la introducción de un receptor de antígeno recombinante.

[000578] Las condiciones pueden incluir uno o más de medios particulares, temperatura, contenido de oxígeno, contenido de

dióxido de carbono, tiempo, agentes, por ejemplo, nutrientes, aminoácidos, antibióticos, iones, y/o factores estimulantes, tal como citocinas, quimiocinas, antígenos, compañeros de unión, proteínas de fusión, receptores solubles recombinantes, y cualquier otro agente designado para activar las células.

[000579] En algunas modalidades, las condiciones de estimulación o agentes incluyen uno o más agentes, por ejemplo, ligando, que es capaz de activar un dominio de señalización intracelular de un complejo de TCR. En algunos aspectos, el agente activa o inicia la cascada de señalización intracelular de TCR/CD3 en una célula T. Estos agentes pueden incluir anticuerpos, tal como aquellos específicos para un componente de TCR y/o receptor coestimulante, *por* ejemplo, anti-CD3, anti-CD28, por ejemplo, unidos a soporte sólido tal como una cuenta, y/o una o más citocinas. Opcionalmente, el método de expansión puede también comprender el paso de añadir anticuerpos anti-CD3 y/o anti CD28 al medio de cultivo (por ejemplo, a una concentración de al menos aproximadamente 0.5 ng/ml). En algunas modalidades, los agentes estimulantes incluyen IL-2 e/o IL-15, por ejemplo, una concentración de IL-2 de al menos aproximadamente 10 unidades/mL.

[000580] En algunos aspectos, la incubación se lleva a cabo de acuerdo con técnicas tales como las descritas en la US

Patent N.° 6,040,177 para Riddell et al., Klebanoff et al. (2012) J Immunother. 35(9): 651-660, Terakura et al. (2012) Blood.1:72-82, y/o Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701.

[000581] En algunas modalidades, los linfocitos T se expanden al añadir células sustentadoras a la composición de comienzo del cultivo, como células mononucleares de sangre periférica (PBMC) no divisoras (por ejemplo, de tal manera que la población de células resultante contiene al menos aproximadamente 5, 10, 20 o 40 o más células sustentadoras PBMC para cada linfocito T en la población inicial a expandir); y la incubación del cultivo (por ejemplo, durante un tiempo suficiente para expandir la cantidad de linfocitos T). En algunos aspectos, las células alimentadoras no de división pueden comprender células alimentadoras de PBMC irradiadas con rayos gamma células alimentadoras. En algunas modalidades, las PBMC se irradian con rayos gamma en el intervalo de aproximadamente 3000 a 3600 radiaciones para impedir la división celular. En algunos aspectos, las células alimentadoras se adicionan al medio de cultivo antes de la adición de las poblaciones de células T.

[000582] En algunas modalidades, las condiciones de estimulación incluyen temperatura adecuada para el crecimiento de linfocitos T humanos, por ejemplo, al menos aproximadamente 25 grados Celsius, en general al menos

aproximadamente 30 grados, y en general a, o aproximadamente 37 grados Celsius. Opcionalmente, la incubación puede comprender además adicionar células linfoblastoides transformadas por EBV no de división (LCL) como células alimentadoras. Las LCL se pueden irradiar con rayos gamma en el intervalo de aproximadamente 6000 a 10000 radiaciones. Las células alimentadoras de LCL en algunos aspectos se proporcionan en cualquier cantidad adecuada, tal como una relación de células alimentadoras de LCL a linfocitos T iniciales de al menos aproximadamente 10:1.

[000583] En algunas modalidades, los linfocitos T específicos de antígenos, tales como los linfocitos T CD4+ y/o CD8+ específicos de antígenos, se obtienen mediante la estimulación con antígenos de los linfocitos T no activados o específicos de antígenos. Por ejemplo, se pueden generar clones o líneas de células T específicas para antígeno para antígenos de citomegalovirus al aislar células T de sujetos infectados y al estimular las células in vitro con el mismo antígeno.

C. Células, vectores y composiciones diseñados multidiana

[000584] También se suministran células, como las células diseñadas mediante ingeniería que se pueden unir, y/o dirigirse a varios antígenos. En algunas modalidades, la selectividad y especificidad mejorada se logran a través de estrategias que se dirigen a varios antígenos. Tales

estrategias generalmente incluyen varios dominios de unión a antígenos, que por lo general están presentes en distintos receptores de antígenos diseñados genéticamente y que se unen específicamente a diferentes antígenos. En algunas modalidades, las células se diseñan con la capacidad de unirse a más de un antígeno. Por ejemplo, en algunas modalidades, las células se diseñan para que expresen moléculas de unión multiespecíficas. En algunas modalidades, las células expresan varias moléculas de unión, por ejemplo, receptores recombinantes, cada uno de los cuales puede dirigirse a un antígeno o a varios antígenos, por ejemplo, un receptor que se dirige a GPRC5D, como cualquiera de los descritos aquí, y otro receptor que se dirige a otro antígeno, tal como un antígeno tumoral, por ejemplo, BCMA. Los receptores anti-BCMA ideales se describen en el presente documento y en WO 2013/154760, WO 2015/052538, WO 2015/090229, WO 2015/092024, WO 2015/158671, WO 2016/014565, WO 2016/014789, WO 2016/094304, WO 2016/166630, WO 2017/021450, WO 2017/083511, WO 2017/130223, WO 2017/211900, WO 2018/085690, WO 2018/028647.

[000585] En algunos aspectos, en la célula se introduce una pluralidad de receptores de antígenos diseñados genéticamente, que se unen específicamente a distintos antígenos, cada uno expresado en la enfermedad o en la afección diana con las células o los tejidos o las células de

estos. Tales características pueden, en algunos aspectos, abordar o reducir la probabilidad de efectos inespecíficos y/o incrementar la respuesta. Por ejemplo, donde un único antígeno expresado en una enfermedad o afección también está expresado en células no enfermas o normales, tales métodos multidiana pueden proporcionar selectividad para los tipos de células deseados al requerir la unión mediante varios receptores de antígenos, a fin de activar la célula o inducir una función efectora particular. En algunas modalidades, se puede diseñar una pluralidad de células para que expresen una o más moléculas de unión diferentes, por ejemplo, receptores recombinantes, cada uno de los cuales puede dirigirse a un antígeno o a varios antígenos.

[000586] También se suministran células o composiciones multiespecíficas, tales como las que contienen una o más de cualquiera de las moléculas o células de unión suministradas aquí. En algunos aspectos, las células son multiespecíficas tales como las células que contienen una proteína de superficie celular, incluido el receptor anti-GPRC5D o el dominio de este y una proteína de superficie celular adicional o el dominio de esta, tal como un receptor quimérico adicional o el dominio de este, que se une a un antígeno diferente o aun epítopo distinto en GPRC5D. En algunas modalidades, el receptor quimérico adicional se une a un antígeno BCMA o a un epítopo de BCMA o el antígeno

adicional es BCMA. En algunas modalidades, se suministran composiciones de células que expresan receptores recombinantes, donde una o más de las moléculas de unión, las moléculas de unión multiespecíficas y/o los receptores recombinantes se unen y/o se dirigen a GPRC5D. En algunas modalidades, las moléculas de unión multiespecíficas y/o los receptores recombinantes y/o las células o composiciones se dirigen a uno o más epítopos diferentes en GPRC5D. En algunas modalidades, las moléculas de unión multiespecíficas y/o los receptores recombinantes o las células o composiciones se dirigen a uno o más epítopos diferentes en GPRC5D y a uno o más epítopos en BCMA.

[000587] En algunas modalidades, se suministra una composición de células, donde las células dentro de la composición expresan una o más moléculas de unión, por ejemplo, receptores recombinantes. En algunas modalidades, la célula comprende uno o más vectores o constructos (y en algunos casos ha sido transformada o transfectada o transducida con estos) que comprenden uno o más ácido nucleico que codifica una o más secuencia de aminoácidos que comprenden uno o más anticuerpos y/o partes de estos, por ejemplo, los fragmentos de unión a antígenos de estos. En algunas modalidades, se suministran una o más de estas células. En algunas modalidades, se suministra una composición que contiene una o más de estas células. En

algunas modalidades, una o más de estas células pueden expresar distintos receptores o el mismo receptor. En algunas modalidades, las células dentro de la composición expresan una molécula de unión multiespecífica, por ejemplo, un receptor multiespecífico, por ejemplo, CAR.

[000588] En algunos aspectos, las modalidades proporcionadas incluyen estrategias multidiana que tienen como diana el GPRC5D y un segundo antígeno o un antígeno adicional asociado con una enfermedad o afección en particular. En algunas modalidades, el segundo antígeno o el antígeno adicional es diana de una molécula de unión multiespecífica y/o varias moléculas de unión y/o una pluralidad de células, por ejemplo, una o más células, cada una diseñada para expresar uno o más receptores recombinantes. En algunas modalidades, un receptor recombinante que tiene como diana a un segundo antígeno o a un antígeno adicional se expresa en la misma célula que una molécula de unión a GPRC5D, por ejemplo, un CAR anti-GPRC5D, o en una célula diferente.

[000589] En algunas modalidades, otros receptores recombinantes que se unen o tienen como diana específicamente a un segundo antígeno están incluidos en las células, las composiciones y los métodos suministrados aquí. En algunas modalidades, la pluralidad de antígenos, por ejemplo, el primer antígeno, por ejemplo, GPRC5D y los segundos antígenos o antígenos adicionales, por ejemplo, BCMA, se expresan o se

sospecha que se expresan en la célula, el tejido o la enfermedad o afección diana, tales como en la célula cancerígena. En algunos aspectos, la célula, tejido, enfermedad o condición es mieloma múltiple o una célula de mieloma múltiple.

[000590] En algunos aspectos, el segundo antígeno, por ejemplo, o el antígeno adicional, tal como el antígeno específico de la enfermedad y/o el antígeno relacionado, se expresa en el mieloma múltiple, tal como BCMA, CD38 (hidrolasa ribosa de ADP cíclico), CD138 (sindecan-1, sindecan, SYN-1), CS-1 (CS1, CD2 subconjunto 1, CRACC, SLAMF7, CD319, y 19A24), BAFF-R, TACI y/o FcRH5. Otros antígenos de mieloma múltiple ideales incluyen CD56, TIM-3, CD33, CD123, CD44, CD20, CD40, CD74, CD200, EGFR, β2-Microglobulina, HM1.24, IGF-1R, IL-6R, TRAIL-R1, y el tipo IIA del receptor de activina (ActRIIA) (consulte Benson y Byrd, J. Clin. Oncol. (2012) 30(16): 2013-15; Tao y Anderson, Bone Marrow Research (2011):924058; Chu et al., Leukemia (2013) 28(4):917-27; Garfall et al., Discov Med. (2014) 17(91):37-46). En algunas modalidades, los antígenos incluyen aquellos presentes en tumores linfoides, mieloma, linfoma asociado con SIDA, y/o linfoproliferaciones post-trasplante, tal como CD38. Se conocen anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno dirigidos contra estos antígenos e incluyen, por ejemplo, aquellos descritos en la Patente de Estados Unidos

de América No. 8,153,765; 8,603477, 8,008,450; Publicación de Estados Unidos de América N.° US20120189622 o US20100260748; y/o Publicación Internacional de PCT N.° WO 2006/099875, WO 2009/080829, WO 2012/092612, WO2014210064, WO 2013/154760, WO 2015/052538, WO 2015/090229, WO 2015/092024, WO 2015/158671, WO 2016/014565, WO 2016/014789, WO 2016/094304, WO 2016/166630, WO 2017/021450 , WO 2017/083511, WO 2017/130223, WO 2017/211900, WO 2018/085690, WO 2018/028647. En algunas modalidades, estos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos (por *ejemplo*, scFv) se contienen en anticuerpos multiespecíficos, receptores quiméricos multiespecíficos, tal como CAR multiespecíficos, y/o células multiespecíficas.

[000591] En algunas modalidades, las células proporcionadas expresan los CAR suministrados y uno o más de otros receptores recombinantes, tales como un receptor recombinante anti-BCMA (por ejemplo, un CAR anti-BCMA). En algunas modalidades, las células suministradas contienen polinucleótidos que codifican uno o más receptores recombinantes (por ejemplo, un CAR anti-BCMA) además de uno o más polinucleótidos que codifican el receptor anti-GPRC5D suministrados aquí. En algunas modalidades, las células suministradas se combinan contras células diseñadas, y expresan un receptor recombinante que no es un receptor anti-GPRC5D, tal como células diseñadas que expresan un receptor

anti-BCMA (por ejemplo, un CARI anti-BCMA), en las mismas composiciones o unas separadas, y se pueden administrar juntas o separadas en cualquiera de los métodos o usos suministrados. Cualquier receptor recombinante se puede combinar con el receptor anti-GPRC5D suministrado en cualquiera de las células suministradas, de tal modo que las células suministradas expresan el receptor anti-GPRC5D suministrado aquí y otro receptor. Las células que expresan un receptor anti-GPRC5D (por ejemplo, CAR anti-GPRC5D) se pueden combinar con células que expresan cualquier receptor recombinante, en la misma composición o en una separada, para ser utilizadas en los métodos o usos suministrados aquí. Dichas células, composiciones y polinucléotidos se encuentran descritos en el presente documento.

[000592] En algunas modalidades, el otro receptor recombinante es un receptor anti-BCMA, tal como un CAR anti-BCMA. El uso o la incorporación de cualquier CAR anti-BCMA en las células suministradas, los métodos y usos de este documento se encuentra contemplado. Los polinucleótidos que codifican un receptor anti-GPRC5D suministrado aquí y otro receptor, por ejemplo, en un vector de expresión multicistrónica (por ejemplo, bicistrónico), también se encuentran contemplados. Las moléculas CAR anti-BCMA ideales se describen en el presente documento y en WO 2013/154760, WO 2015/052538, WO 2015/090229, WO 2015/092024, WO 2015/158671,

WO 2016/014565, WO 2016/014789, WO 2016/094304, WO 2016/166630, WO 2017/021450, WO 2017/083511, WO 2017/130223, WO 2017/211900, WO 2018/085690, WO 2018/028647.

[000593] En algunas modalidades, el CAR es un CAR anti-BCMA que es específico para BCMA, por ejemplo, BCMA humano. Se han descrito anteriormente receptores de antígeno quimérico que contienen anticuerpos anti-BCMA, que incluyen anticuerpos de BCMA anti-humano de ratón, y anticuerpos anti-humano humanos, y células que expresan estos receptores quiméricos. Ver Carpenter et al. Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048- 2060, WO 2016/090320, WO2016090327, WO2010104949A2 y WO2017173256. En algunas modalidades, el CAR anti-BCMA contiene un dominio de unión a antígeno, tal como un scFv, que contiene una región pesada variable (V_H) y/o una región ligera variable (V_L) derivada de un anticuerpo descrito en WO 2016/090320 o WO2016090327.

[000594] Entre un CAR anti-BCMA proporcionado está un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°: 189 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos, en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a

SEQ ID N.°:189; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:190 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:190. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 199, 200, 201, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 218, 219 y 220, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:189 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:190. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID N.°:237 o una secuencia de aminoácidos al menos en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o

aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:237. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 242, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 242. En algunas modalidades, el CAR anti-BCMA tiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N.°: 247, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el , o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 247.

[000595] Entre un CAR anti-BCMA proporcionado está un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°: 191 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos, en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o

aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:191; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:192 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:192. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 202, 203, 204, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 221, 222, 223, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:191 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:192. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID N.°:238 o una secuencia de aminoácidos al menos en, o aproximadamente 90%,

en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:238. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 243, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 243. En algunas modalidades, el CAR anti-BCMA tiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N.°: 248, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el , o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 248.

[000596] Entre un CAR anti-BCMA proporcionado está un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID

N.°: 193 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos, en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:193; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:194 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:194. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 199, 200 y 205, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 224, 225 y 226, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:193 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:194. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual,

tal como un scFv. En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID N.°:239 o una secuencia de aminoácidos al menos en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:239. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 244, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 244. En algunas modalidades, el CAR anti-BCMA tiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N.°: 249, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el , o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 249.

[000597] Entre un CAR anti-BCMA proporcionado está un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°: 195 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos, en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:195; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:196 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:196. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 206, 207 y 208, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 227, 228 y 229, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR

proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 212, 213 y 214, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 233, 234 y 229, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:195 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:196. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID N.°:240 o una secuencia de aminoácidos al menos en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:240. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 245, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o

aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 245. En algunas modalidades, el CAR anti-BCMA tiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N.°: 250, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el , o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 250.

[000598] Entre un CAR anti-BCMA proporcionado está un CAR en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno contiene una región V_H que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°: 197 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos, en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:197; y contiene una región V_L que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:198 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o

aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:198. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 209, 210 y 211, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 230, 231 y 232, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del CAR proporcionado contiene una región V_H que tiene una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 215, 216 y 217, respectivamente, y una región V_L que tiene una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.°: 235, 236, 232, respectivamente. En algunas modalidades, la región V_H comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:197 y la región V_L comprende la secuencia expuesta en SEQ ID N.°:198. En algunas modalidades, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo de cadena individual, tal como un scFv. En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID N.°:241 o una secuencia de aminoácidos al menos en, o aproximadamente 90%, en, o aproximadamente 91%, en, o aproximadamente 92%, en, o aproximadamente 93%, en, o aproximadamente 94%, en, o

aproximadamente 95%, en, o aproximadamente 96%, en, o aproximadamente 97%, en, o aproximadamente 98%, en, o aproximadamente 99% de identidad a SEQ ID N.°:241. En algunas modalidades, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 246, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 246. En algunas modalidades, el CAR anti-BCMA tiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N.°: 251 o 252, o una secuencia de aminoácidos de al menos, o aproximadamente el 90%, el , o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98% o el, o aproximadamente el 99% de identidad respecto de SEQ ID n.°: 251 o 252.

[000599] En algunas modalidades, las células y los métodos incluyen estrategias multidiana, tales como la expresión de dos o más receptores diseñados genéticamente en la célula, donde cada uno reconoce un antígeno diferente y, en algunos aspectos, cada uno incluye un componente de señalización

intracelular distinto. Tales estrategias multidiana se encuentran descritas, por ejemplo, en la Solicitud de Patente Internacional, Publicación N.°: WO 2014/055668 (que describe las combinaciones de los CAR de activación y coestimulación, por ejemplo, que tienen como diana dos antígenos distintos presentes individualmente en células inespecíficas, por ejemplo, células normales, pero presentes juntos solamente en células de la enfermedad o la afección a tratar) y en Fedorov et al. (2013) Sci. Transl. Medicine, 5(215) (que describen células que expresan un CAR de activación y uno de inhibición, como aquellos en los que el CAR de activación se une a un antígeno expresado tanto en células normales como en células no enfermas y células de la enfermedad o afección a tratar, y el CAR de inhibición se une a otro antígeno expresado solamente en las células normales o células que no se desea tratar).

[000600] En algunas modalidades, se suministra una pluralidad de células, cada una diseñada para expresar uno o más receptores recombinantes. Por ejemplo, en algunas modalidades, una célula es diseñada para expresar una molécula de unión que se une y/o se dirige a GPRC5D, y otra célula es diseñada para expresar una molécula de unión que se une y/o se dirige a un antígeno adicional o a un segundo antígeno. En algunas modalidades, el antígeno adicional o el segundo antígeno es BCMA. En algunas modalidades, las células

pueden cada una expresar una molécula de unión multiespecífica, por ejemplo, un receptor recombinante multiespecífico, donde uno o más de los antígenos diana es GPRC5D. En algunas modalidades, la pluralidad de las células se pueden administrar juntas o separadas. En algunas modalidades, la pluralidad de células se administra de manera simultánea, concurrente o posterior con las células, por ejemplo, administradas el mismo día y/o secuencialmente con, o intermitentemente con, en cualquier orden, otra célula diseñada en la pluralidad. P. ej., en algunas modalidades, una célula diseñada que expresa un receptor de unión a GPRC5D, por ejemplo, CAR, se administra de manera simultánea o secuencial con, en cualquier orden otra célula diseñada que expresa una molécula de unión que se une a un antígeno diana distinto, por ejemplo, BCMA o un epítopo diferente en GPRC5D. En algunas modalidades, la pluralidad de las células puede estar en la misma composición.

IV. Composiciones Farmacéuticas

[000601] También se suministran composiciones que incluyen los receptores recombinantes anti-GPRC5D (por ejemplo, CAR anti-GPRC5D) y células diseñadas, que incluyen composiciones y formulaciones farmacéuticas. Entre dichas composiciones se encuentran las que incluyen células diseñadas, tales como una pluralidad de células diseñadas, que expresan los receptores recombinantes anti-GPRC5D suministrados (por ejemplo, CAR).

[000602] También se suministran composiciones que incluyen los receptores recombinantes anti-GPRC5D (por ejemplo, CAR anti-GPRC5D) y un segundo receptor recombinante (por ejemplo, CAR), tal como un receptor recombinante anti-BCMA (por ejemplo, CAR anti-BCMA) y células diseñadas, que incluyen composiciones y formulaciones farmacéuticas. Entre dichas composiciones se encuentran las que incluyen células diseñadas, tales como una pluralidad de células diseñadas, que expresan los receptores recombinantes anti-GPRC5D suministrados (por ejemplo, CAR) y/o el segundo receptor recombinante (por ejemplo, CAR), tal como un receptor recombinante anti-BCMA (por ejemplo, CAR anti-BCMA). En algunas modalidades, las composiciones suministradas incluyen células diseñadas, tales como una pluralidad de células diseñadas, que expresan los CAR anti-GPRC5D suministrados y que también expresan CAR anti-BCMA. En algunas modalidades, las composiciones suministradas incluyen células diseñadas, que expresan los CAR suministrados que se unen a GPRC5D y a BCMA, tales como los que comprenden un scFv anti-GPRC5D y un scFv anti-BCMA.

[000603] Se suministran formulaciones farmacéuticas que comprenden un receptor de antígenos quiméricos recombinantes que se unen a GPRC5D y células diseñadas que expresan dichos receptores, una pluralidad de células diseñadas que expresan dichos receptores y/o agentes adicionales para la combinación

de tratamiento o terapia. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas generalmente incluyen uno o más transportadores o excipientes farmacéuticos opcionales. En algunas modalidades, la composición incluye al menos un agente terapéutico adicional.

[000604] El término "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que se encuentra en tal forma que permite la actividad biológica de un principio activo contenido en esta para que sea eficaz, y que no contiene componentes adicionales que sean tóxicos inadecuadamente para un sujeto a quien se le podría administrar la formulación.

[000605] Un "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente en una formulación farmacéutica, distinto de un ingrediente activo, que no es tóxico para un sujeto. Un portador farmacéuticamente aceptable incluye, pero no se limita a, un agente amortiguador, excipiente, estabilizador, o conservador.

[000606] En algunos aspectos, la elección de transportador se determina en parte mediante la célula particular, la molécula de unión y/o el anticuerpo y/o el método de administración. Por consiguiente, existe una variedad de formulaciones adecuadas. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede contener conservadores. Los conservadores adecuados pueden incluir, por ejemplo, metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sodio, y cloruro de benzalconio.

En algunos aspectos, se utiliza una mezcla de dos o más conservadores. Los conservantes o las mezclas de estos en general están presentes en una cantidad de aproximadamente el 0.0001% al 2% por peso de la composición total. Los transportadores los describe, por ejemplo, Remington en Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980). Los transportadores farmacéuticamente aceptables en general no son tóxicos para los receptores en las dosis y las concentraciones empleadas, e incluyen entre otros: soluciones amortiguadoras tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de amonio octadecildimetilbenzilo; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de benzatonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; parabenos alquilos, tales como metilparabenos o propilparabenos; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentatol y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de 10 resiudos aproximadamente); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos, tales como polivinilpirrolidona; aminácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monsacáridos, disacáridos y demás carbohidratos, que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones que

forman sales, tales como el sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos protéicos de Zn); y/o surfactantes no iónicos, tales como el macrogol (PEG).

[000607] En algunos aspectos, se incluyen agentes amortiguadores en las composiciones. Los agentes amortiguadores adecuados incluyen, por ejemplo, ácido cítrico, citrato de sodio, ácido fosfórico, fosfato de potasio, y varios otros ácidos o sales. En algunos aspectos, se utiliza una mezcla de dos o más agentes amortiguadores. El agente amortiguador o las mezclas de este en general están presentes en una cantidad de aproximadamente el 0.001% al 4% por peso de la composición total. Se conocen métodos para preparar composiciones farmacéuticas administrables. Los métodos de ejemplo se describen en más detalle en, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (1 de Mayo, 2005).

[000608] Las formulaciones de los anticuerpos descritos aquí pueden incluir formulaciones liofilizadas y soluciones acuosas.

[000609] La formulación o la composición también puede contener más de un principio activo útil para la indicación particular, la enfermedad o la afección a tratar con las moléculas o células de unión, preferentemente aquellas con actividades complementarias a la molécula o célula de unión, donde las actividades respectivas no afectan negativamente a

las demás. Tales principios activos están presentes adecuadamente en combinación, en cantidades que son eficaces para el fin previsto. De este modo, en algunas modalidades, la composición farmacéutica incluye otros agentes o medicamentos activos farmacéuticamente, tales como agentes quimioterapéuticos, por ejemplo, asparaginasa, busulfán, carboplatino, cisplatino, daunorubicina, doxorrubicina, fluorouracilo, gemcitabina, hidroxiurea, metotrexato, paclitaxel, rituximab, vinblastina, vincristina, etc. En algunas modalidades, las células o los anticuerpos se administran en la forma de una sal, por ejemplo, una sal aceptable farmacéuticamente. Las sales adecuadas de adición ácida aceptables farmacéuticamente incluyen las que derivan de ácidos minerales, tales como el ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico y los ácidos orgánicos, tales como el ácido tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzóico, glicólico, glucónico, succínico y los ácidos arilsulfónicos, por ejemplo, el ácido p-toluenosulfónico.

[000610] Los principios activos pueden estar encapsulados en microcápsulas, en sistemas de administración de medicamentos coloides (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nano partículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. En ciertas modalidades, la composición farmacéutica se formula como un complejo de inclusión, tal

como el complejo de inclusión de ciclodextrina, o como un liposoma. Los liposomas pueden servir para dirigir las células huésped (por ejemplo, linfocitos T y células NK) a un tejido en particular. Muchos métodos están disponibles para la preparación de liposomas, tales como los descritos aquí, por ejemplo, Szoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9: 467 (1980), y patentes de EE.UU. 4,235,871, 4,501,728, 4,837,028, y 5,019,369.

[000611] La composición farmacéutica, en algunos aspectos, puede emplear sistemas de administración de liberación horaria, de liberación demorada y de liberación sostenida, de forma tal que la administración de la composición tiene lugar antes, y con suficiente tiempo para se produzca, de la sensibilización del lugar a tratar. Se dispone de muchos tipos de sistemas de administración de liberación que son conocidos. Tales sistemas pueden evitar las administraciones repetidas de la composición, lo cual incrementa la conveniencia para el sujeto y el médico.

[000612] La composición farmacéutica, en algunas modalidades, contiene las moléculas y/o células de unión en cantidades efectivas para tratar o evitar la enfermedad o afección, como una cantidad terapéuticamente efectiva o profilácticamente efectiva. La eficacia terapéutica o profiláctica, en algunas modalidades, es controlada por una evaluación periódica de los sujetos tratados. Para

administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la condición, el tratamiento se repite hasta que se presenta una supresión deseada de síntomas de la enfermedad. Sin embargo, pueden ser útiles otros regímenes de dosificación y se pueden determinar. La dosificación deseada se puede administrar por una administración en bolo individual de la composición, por múltiples administraciones en bolo de la composición, o por administración de infusión continua de la composición.

[000613] En ciertas modalidades, en el contexto de células diseñadas genéticamente que contienen las moléculas de unión, un sujeto recibe la administración del rango de aproximadamente un millón a aproximadamente 100 mil millones de células, como por ejemplo, 1 millón a aproximadamente 50 mil millones de células (por ejemplo, aproximadamente 5 millones de células, aproximadamente 25 millones de células, aproximadamente 500 millones de células, aproximadamente 1 mil millones de células, aproximadamente 5 mil millones de células, aproximadamente 20 mil millones de células, aproximadamente 30 mil millones de células, aproximadamente 40 mil millones de células, o un rango definido por dos de los valores anteriores), como aproximadamente 10 millones a aproximadamente 100 mil millones de células (por ejemplo, aproximadamente 20 millones de células, aproximadamente 30 millones de células, aproximadamente 40 millones de células,

aproximadamente 60 millones de células, aproximadamente 70 millones de células, aproximadamente 80 millones de células, aproximadamente 90 millones de células, aproximadamente 10 mil millones de células, aproximadamente 25 mil millones de células, aproximadamente 50 mil millones de células, aproximadamente 75 mil millones de células, aproximadamente 90 mil millones de células, o un rango definido por dos de los valores anteriores), y en algunos casos aproximadamente 100 millones de células a aproximadamente 50 mil millones de células (por ejemplo, aproximadamente 120 millones de células, aproximadamente 250 millones de células, aproximadamente 350 millones de células, aproximadamente 450 millones de células, aproximadamente 650 millones de células, aproximadamente 800 millones de células, aproximadamente 900 millones de células, aproximadamente 3 mil millones de células, aproximadamente 30 mil millones de células, aproximadamente 45 mil millones de células) o cualquier valor entre estos rangos, y/o la cantidad de células por kilogramo de peso corporal del sujeto. En algunos aspectos, en el contexto de células diseñadas genéticamente que expresan las moléculas de unión, por ejemplo, CAR, una composición puede contener al menos la cantidad de células para la administración de una dosis de terapia celular, tal como aproximadamente, o al menos, la cantidad de células descritas aquí para la administración.

[000614] Se las puede administrar mediante el uso de técnicas, formulaciones y/o dispositivos de administración estándar. Se proporcionan formulaciones y dispositivos, tal como jeringas y frascos, para almacenamiento y administración de las composiciones. La administración de las células puede ser autóloga o heteróloga. Por ejemplo, las células inmunosensibles o progenitores se pueden obtener a partir de un sujeto, y se pueden administrar al mismo sujeto o un sujeto compatible diferente. Las células con respuesta inmunitaria de sangre periférica o su elemento primario (por ejemplo, derivados in vivo, ex vivo o derivados in vitro) se pueden administrar mediante una inyección localizada, que incluye la administración por catéter, inyección sistémica, inyección localizada, inyección intravenosa o administración parenteral. Al administrar una composición terapéutica (por ejemplo, una composición farmacéutica que contiene una célula con respuesta inmunitaria modificada genéticamente), esta generalmente estará formulada en una forma inyectable de posología unitaria (solución, suspensión, emulsión).

[000615] Las formulaciones incluyen aquellas para administración oral, venosa, intraperitoneal, subcutánea, pulmonar, transdérmica, intramuscular, intranasal, bucal, sublingual, o en supositorio. En algunas modalidades, las poblaciones de células se administran de forma parenteral. El término “parenteral”, tal como se lo utiliza aquí, incluye la

administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, rectal, vaginal, intracraneal, intratorácica e intraperitoneal. En algunas modalidades, las poblaciones de células se administran a un sujeto que utiliza una administración sistémica periférica mediante inyección intravenosa, intraperitoneal o subcutánea.

[000616] Las composiciones en algunas modalidades se suministran como preparaciones líquidas estériles, por ejemplo, soluciones acuosas isotónicas, suspensiones, emulsiones, dispersiones o composiciones viscosas, que pueden, en algunos aspectos, ser amortiguadas hasta alcanzar un pH seleccionado. Las preparaciones líquidas normalmente son más fáciles de preparar que geles, otras composiciones viscosas, y composiciones sólidas. Adicionalmente, las composiciones líquidas son de alguna manera más convenientes de administrar, en especial por inyección. Las composiciones viscosas, por otra parte, se pueden formular dentro del intervalo de viscosidad apropiado para proporcionar periodos de contacto más largos con tejidos específicos. Las composiciones líquidas o viscosas pueden comprender transportadores, que pueden ser un solvente o un medio dispersante que contiene, por ejemplo, agua, solución salina, solución salina amortiguada con fosfato, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, macrogol líquido) y las mezclas adecuadas de estas.

[000617] Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar mediante la incorporación de la molécula de unión en un solvente, tal como en una mezcla con un transportador, un diluyente o un excipiente adecuados, tales como agua estéril, solución salina fisiológica, glucosa, dextrosa o similares. Las composiciones también se pueden liofilizar. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares tales como agentes humectantes, dispersantes o emulsificantes (por ejemplo, metilcelulosa), agentes de amortiguación de pH, aditivos gelificantes o de aumento de la viscosidad, conservantes, aromatizantes, colorantes y similares, según la vía y la preparación deseada. En algunos aspectos, se pueden consultar textos estándar para preparar preparaciones adecuadas.

[000618] Se pueden adicionar varios aditivos que mejoran la estabilidad y esterilidad de las composiciones, incluyendo conservadores antimicrobianos, antioxidantes, agentes queladores, y agentes amortiguadores. La prevención de la acción de microorganismos se puede garantizar por diversos agentes antimicrobianos y antimicóticos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido, ácido sórbico y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede provocar por el uso de agentes que retardan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

[000619] Se pueden hacer preparaciones de liberación sostenida. Ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, cuyas matrices están en la forma de artículos formados, por ejemplo, películas, o microcápsulas.

[000620] Las formulaciones a ser utilizadas para la administración in vivo son generalmente estériles. La esterilidad se puede logra fácilmente, por ejemplo, mediante la filtración a través de membranas de filtración estéril.

[000621] También se suministran composiciones farmacéuticas para terapia de combinación. Cualquiera de los agentes adicionales para la terapia de combinación descritos aquí, tales como los agentes descritos en la Sección II.C, se pueden preparar uy administrar como una o más composiciones farmacéuticas, con el receptor recombinante anti-GPRC5D (por ejemplo, receptor de antígenos quiméricos) y/o células diseñadas que expresan dichas moléculas (por ejemplo, receptor recombinante) descritas aquí. La terapia de combinación se puede administrar en una o más composiciones farmacéuticas, por ejemplo, donde las moléculas de unión, los receptores recombinantes y/o las células se encuentran en la misma composición farmacéutica que el agente adicional, o en composiciones farmacéuticas separadas. P. ej., en algunas modalidades, el agente adicional es una célula diseñada

adicional, por ejemplo, célula diseñada para expresar un receptor recombinante diferente, tal como un receptor recombinante dirigido a BCMA, y se administra en la misma composición o en una composición separada. En algunas modalidades, cada una de las composiciones farmacéuticas se formula en una formulación adecuada, según la molécula de unión particular, el receptor recombinante, la célula, por ejemplo, célula diseñada, y/o el agente adicional, y la pauta posológica y/o método particular de administración.

V. Métodos y usos

[000622] También se suministran los métodos para utilizar y los usos de los receptores recombinantes dirigidos a GPRC5D, las células diseñadas y las composiciones farmacéuticas y sus formulaciones, como en el tratamiento de enfermedades, afecciones y trastornos en los que se expresa GPRC5D, y/o los métodos de detección, diagnóstico y pronóstico. Entre dichos métodos y usos se encuentran los que implican la administración a un sujeto de células diseñadas, tales como una pluralidad de células diseñadas, que expresan los receptores recombinantes anti-GPRC5D suministrados (por ejemplo, CAR). También se suministran métodos de terapia y/o tratamiento de combinación.

A. Métodos y usos terapéuticos y profilácticos

[000623] También se suministran los métodos de administración y los usos, como los usos terapéuticos y

profilácticos de los receptores recombinantes anti-GPRC5D (por ejemplo, CAR), células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), pluralidad de células diseñadas que expresan a los receptores, y/o composiciones que comprenden a estos. Dichos métodos y usos incluyen los métodos y usos terapéuticos, por ejemplo, que implican la administración de las moléculas (por ejemplo, receptores recombinantes), células (por ejemplo, células diseñadas) o composiciones que contienen a estas, para un sujeto que tiene una enfermedad, una afección o un trastorno asociado con GPRC5D, tal como una enfermedad, una afección o un trastorno asociado con expresión de GPRC5D y/o en cuyas células o tejidos se expresa, por ejemplo, expresa específicamente, GPRC5D. En algunas modalidades, la molécula, la célula y/o composición se administran en una cantidad eficaz para hacer efecto en el tratamiento de la enfermedad o el trastorno. En el presente documento se suministran los usos de los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) y las células (por ejemplo, células diseñadas) en tales métodos y tratamientos, y en la preparación de un medicamento, a fin de llevar a cabo tales métodos terapéuticos. En algunas modalidades, los métodos se llevan a cabo mediante la administración de las moléculas o células de unión, o las composiciones que comprenden a estas, al sujeto que tiene, que tuvo o que se sospecha que tiene la enfermedad o

afección. En algunas modalidades, los métodos por lo tanto tratan la enfermedad, la afección o el trastorno en el sujeto. También aquí se suministra el uso de cualquiera de las composiciones, tales como las composiciones farmacéuticas suministradas aquí, para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno asociado con GPRC5D, tal como el uso en un régimen de tratamiento.

[000624] También se suministran los métodos de administración y los usos, como los usos terapéuticos y profilácticos de los receptores recombinantes anti-GPRC5D y anti-BCMA (por ejemplo, CAR), células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), pluralidad de células diseñadas que expresan a los receptores, y/o composiciones que comprenden a estos. Dichos métodos y usos incluyen los métodos y usos terapéuticos, por ejemplo, que implican la administración de las moléculas (por ejemplo, receptores recombinantes), células (por ejemplo, células diseñadas) o composiciones que contienen a estas, para un sujeto que tiene una enfermedad, una afección o un trastorno asociado con GPRC5D y/o BCMA, tal como una enfermedad, una afección o un trastorno asociado con expresión de GPRC5D y/o BCMA en cuyas células o tejidos se expresa, por ejemplo, expresa específicamente, GPRC5D y/o BCMA. En algunas modalidades, la molécula, la célula y/o composición se administran en una cantidad eficaz para hacer efecto en el

tratamiento de la enfermedad o el trastorno. En el presente documento se suministran los usos de los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) y las células (por ejemplo, células diseñadas) en tales métodos y tratamientos, y en la preparación de un medicamento, a fin de llevar a cabo tales métodos terapéuticos. En algunas modalidades, los métodos se llevan a cabo mediante la administración de las moléculas o células de unión, o las composiciones que comprenden a estas, al sujeto que tiene, que tuvo o que se sospecha que tiene la enfermedad o afección. En algunas modalidades, los métodos por lo tanto tratan la enfermedad, la afección o el trastorno en el sujeto. También aquí se suministra el uso de cualquiera de las composiciones, tales como las composiciones farmacéuticas suministradas aquí, para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno asociado con GPRC5D y/o BCMA, tal como el uso en un régimen de tratamiento.

[000625] Como se utiliza en la presente, "tratamiento" (y variaciones gramaticales del mismo tal como "tratar" o "tratando") se refiere a la mejor o reducción completa o parcial de una enfermedad o condición o trastorno, o un síntoma, resultado o efecto adverso, o fenotipo asociado con los mismos. Los efectos deseables del tratamiento incluyen, pero no se limitan a, impedir la ocurrencia o recurrencia de la enfermedad, alivio de síntomas, disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad,

impedir la metástasis, disminuir la tasa de progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado de la enfermedad, y remisión o prognosis mejorada. Los términos no implican la curación completa de una enfermedad o la eliminación completa de cualquier síntoma o efecto en todos los síntomas o resultados.

[000626] Como se utiliza en la presente, "retardar el desarrollo de una enfermedad" significa posponer, dificultar, ralentizar, retrasar, estabilizar, suprimir y/o posponer el desarrollo de la enfermedad (tal como cáncer). Este retraso puede ser de distintos periodos, en función de los antecedentes de la enfermedad y/o del sujeto que esté siendo tratado. Como retraso suficiente o significativo puede, en efecto, abarcar prevención, ya que el sujeto no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, se pude retardar un cáncer de etapa tardía, tal como el desarrollo de metástasis.

[000627] "Prevención", como se utiliza en la presente, incluye proporcionar profilaxis con respecto a la ocurrencia o recurrencia de una enfermedad en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que aún no se ha diagnosticado con la enfermedad. En algunas modalidades, las moléculas y composiciones proporcionadas se usan para retrasar el desarrollo de una enfermedad o para lentificar la evolución de una enfermedad.

[000628] Como se utiliza en la presente, "suprimir" una función o actividad es reducir la función o actividad cuando se compara a las mismas condiciones de otra manera excepto para una condición o parámetro de interés, o alternativamente, en comparación a otra condición. Por ejemplo, un anticuerpo o composición o célula que suprime el crecimiento de tumores reduce la tasa de crecimiento del tumor en comparación con la tasa de crecimiento del tumor en ausencia del anticuerpo o composición o célula.

[000629] Una "cantidad eficaz" de un agente, por ejemplo, una formulación farmacéutica, molécula de unión, anticuerpo, células o composición, en el contexto de la administración, se refiere a una cantidad eficaz, a dosis/cantidades y a periodos necesarios para alcanzar un resultado deseado, tal como un resultado terapéutico o profiláctico.

[000630] Una "cantidad eficaz terapéuticamente" de un agente, por ejemplo, una formulación farmacéutica, molécula de unión, anticuerpo, células o composición se refiere a una cantidad eficaz, en dosis y en periodos necesarios para alcanzar un resultado terapéutico deseado, tal como para el tratamiento de una enfermedad, condición o trastorno, y/o al efecto farmacocinético o farmacodinámico del tratamiento. La cantidad eficaz terapéuticamente puede variar conforme a factores tales como el estado de la enfermedad, edad, sexo y peso del sujeto, y la población de células administradas. En

algunas modalidades, los métodos proporcionados incluyen la administración de las moléculas, anticuerpos, células y/o composiciones en una cantidad eficaz terapéuticamente.

[000631] Una "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, en dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado. Típicamente, pero no necesariamente, dado que una dosis de profilaxis se usa en sujetos antes de o en una etapa temprana de la enfermedad, la cantidad eficaz profilácticamente será menor que la cantidad eficaz terapéuticamente.

[000632] Tal como se usa en la presente, un "sujeto" o un "individuo" es un mamífero. En algunas modalidades, un "mamífero" incluye a los humanos, a primates no humanos, a animales domésticos y de granja, y a animales de zoológico, de deporte o de mascotas, tales como perros, caballos, conejos, ganado, cerdos, hámsteres, gerbos, ratones, hurones, ratas, gatos, monos, etc. En algunas modalidades, el sujeto es un humano.

[000633] Los métodos para la administración de células para la terapia celular adoptiva son conocidos y pueden usarse en conexión con los métodos y composiciones proporcionadas. P. ej., los métodos de la terapia celular adoptiva con células T se describen, por ejemplo, en la Sol. de Patente de EE. UU. Pub. Nro. 2003/0170238 para Gruenberg et al; Patente de EE.

UU. Nro. 4,690,915 para Rosenberg; Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85). Ver, por ejemplo, Themeli et al. (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara et al. (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338.

[000634] Entre las enfermedades para tratar se encuentra cualquier enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D o cualquier enfermedad o trastorno en el que GPRC5D se expresa específicamente y/o en el que se ha seleccionado a GPRC5D para tratamiento (en la presente también se refiere a esto de manera intercambiable como una "enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D"). Los cánceres asociados con la expresión de GPRC5D incluyen neoplasias hemáticas tales como mielomas, por ejemplo, mieloma múltiple. En algunas modalidades, la enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D es un trastorno o neoplasia maligna relacionada con los linfocitos B. En algunas modalidades, la enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D es un mieloma múltiple o una macroglobulinemia de Waldenström. En determinadas modalidades, la enfermedad o trastorno es un mieloma múltiple.

[000635] Entre las enfermedades para tratar se encuentra cualquier enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D y/o BCMA o cualquier enfermedad o trastorno en el que GPRC5D y/o BCMA se expresa específicamente y/o en el que se ha seleccionado a

GPRC5D y/o BCMA para tratamiento (en la presente también se refiere a esto de manera intercambiable como una "enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D" o una "enfermedad o trastorno asociado con BCMA"). Los cánceres asociados con la expresión de GPRC5D y/o BCMA incluyen neoplasias hemáticas tales como mielomas, por ejemplo, mieloma múltiple. En algunas modalidades, la enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D y/o BCMA es un trastorno o neoplasia maligna relacionada con los linfocitos B. En algunas modalidades, la enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D y/o BCMA es un mieloma múltiple o una macroglobulinemia de Waldenström. En determinadas modalidades, la enfermedad o trastorno es un mieloma múltiple.

[000636] En algunas modalidades, la enfermedad o trastorno está asociado con la expresión de GPRC5D y/o BCMA. En algunas modalidades, se sospecha que las células de la enfermedad expresan a ambos antígenos. En algunas modalidades, uno o ambos antígenos son propensos a la pérdida de antígenos, por lo tanto, es posible que algunas células de la enfermedad ya no expresen ambos antígenos. Por consiguiente, en algunas modalidades, es posible que sea beneficioso tener un enfoque selectivo dual, que seleccione tanto a GPRC5D como a BCMA.

[000637] En algunas modalidades, los métodos pueden identificar a un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno

asociado con GPRC5D. Por lo tanto, se proporcionan métodos para identificar sujetos con enfermedades o trastornos asociados con la expresión de GPRC5D y para seleccionarlos para tratamiento con receptores recombinantes de unión a GPRC5D proporcionados (p. Ej., CAR), y/o células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes.

[000638] En algunas modalidades, los métodos pueden identificar a un sujeto que tiene, se sospecha que tiene o tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D y/o BCMA. Por lo tanto, se proporcionan métodos para identificar sujetos con enfermedades o trastornos asociados con la expresión de GPRC5D y/o BCMA y para seleccionarlos para tratamiento con receptores recombinantes de unión a GPRC5D y de unión a BCMA proporcionados (por ejemplo, CAR), y/o células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes.

[000639] Por ejemplo, se puede examinar a un sujeto para controlar si presenta una enfermedad o trastorno asociado con la expresión elevada de GPRC5D, tal como un cáncer con expresión de GPRC5D. En algunas modalidades, los métodos incluyen el examen o la detección de la presencia de una enfermedad asociada con GPRC5D, por ejemplo, un tumor. Por lo tanto, en algunos aspectos, se puede obtener una muestra de un paciente de quien se sospecha que padece la enfermedad o trastorno asociado con la expresión elevada de GPRC5D y hacer

una valoración del nivel de expresión de GPRC5D. En algunos aspectos, un sujeto que arroja un resultado positivo en la prueba para determinar si padece de una enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D puede ser seleccionado para que se le administre tratamiento con los métodos presentes, y se le puede administrar una cantidad eficaz terapéuticamente de un receptor recombinante (por ejemplo, CAR) que comprende una molécula de unión a GPRC5D, células que contienen un receptor recombinante, o una composición farmacéutica de eso tal como se describe aquí.

[000640] Por ejemplo, se puede examinar a un sujeto para controlar si presenta una enfermedad o trastorno asociado con la expresión elevada de GPRC5D y/o BCMA, tal como un cáncer con expresión de GPRC5D y/o BCMA. En algunas modalidades, los métodos incluyen el examen o la detección de la presencia de una enfermedad asociada con GPRC5D y/o BCMA, por ejemplo, un tumor. Por lo tanto, en algunos aspectos, se puede obtener una muestra de un paciente de quien se sospecha que padece la enfermedad o trastorno asociado con la expresión elevada de GPRC5D y/o BCMA y hacer una valoración del nivel de expresión de GPRC5D y/o BCMA. En algunos aspectos, un sujeto que arroja un resultado positivo en la prueba para determinar si padece de una enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D y/o BCMA puede ser seleccionado para que se le administre tratamiento con los métodos presentes, y se le puede administrar una

cantidad eficaz terapéuticamente de una composición que comprende células que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR) que comprende una molécula de unión a GPRC5D y que expresa un receptor recombinante que comprende a una molécula de unión a BCMA o una composición farmacéutica de ella tal como se describe aquí. En algunos aspectos, un sujeto que arroja un resultado positivo en la prueba para determinar si padece de una enfermedad o trastorno asociado con GPRC5D y/o BCMA puede ser seleccionado para que se le administre tratamiento con los métodos presentes, y se le puede administrar una cantidad eficaz terapéuticamente de una composición que comprende células que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR) que comprende una molécula de unión a GPRC5D y una molécula de unión a BCMA, células que comprenden un receptor recombinante que comprende una molécula de unión a GPRC5D y un receptor recombinante que comprende una molécula de unión a BCMA, o una composición farmacéutica de ella tal como se describe aquí.

[000641] En algunas modalidades, el sujeto tiene una enfermedad persistente o recurrente, por ejemplo, luego de tratamiento con un anticuerpo específico para GPRC5D y/o con células que expresan un receptor quimérico dirigido a GPRC5D y/u otra terapia, incluida la quimioterapia, la radiación y/o el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (HSCT), por ejemplo, el HSCT alogénico o el HSCT autólogo. En algunas

modalidades, la administración trata con eficacia al sujeto, a pesar de que el sujeto se haya vuelto resistente a otra terapia dirigida a GPRC5D. En algunas modalidades, el sujeto no ha tenido una recaída, pero se determina que corre riesgo de tener una, tal como un riesgo alto de recaída, y por lo tanto se administra el compuesto o la composición profilácticamente, por ejemplo, para reducir la probabilidad o para evitar la recaída.

[000642] En algunas modalidades, el sujeto ha recibido anteriormente terapia que es una terapia CAR BCMA u otra terapia dirigida a BCMA. En algunas modalidades, el sujeto es resistente o ha tenido una recaída luego de dicha terapia CAR BCMA u otra terapia dirigida a BCMA. En algunos casos, el sujeto es resistente o ha tenido una recaída debido a la pérdida de antígeno/epítopo de BCMA y/o células tumorales negativas para el antígeno de BCMA luego de la terapia.

[000643] En algunas modalidades, el sujeto tiene una enfermedad persistente o una recaída luego del tratamiento con otra terapia, tal como tratamiento con un anticuerpo específico para BCMA, receptor dirigido a BCMA, y/o células que expresan un receptor quimérico dirigido a BCMA. En algunas modalidades, la administración trata con eficacia al sujeto, a pesar de que el sujeto se haya vuelto resistente a otra terapia, tal como terapia dirigida a BCMA. En algunas modalidades, el sujeto no ha tenido una recaída, pero se

determina que corre riesgo de tener una, tal como un riesgo alto de recaída, y por lo tanto se administra el compuesto o la composición profilácticamente, por ejemplo, para reducir la probabilidad o para evitar la recaída.

[000644] En algunas modalidades, el sujeto es elegible para recibir un trasplante, tal como que es elegible para recibir un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (HSCT), por ejemplo, un HSCT alogénico o un HSCT autólogo. En algunas de dichas modalidades, el sujeto no ha recibido un trasplante anteriormente, a pesar de haber sido elegible, antes de la administración de los receptores recombinantes antiGPRC5D (por ejemplo, CAR), células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), pluralidad de células diseñadas que expresan a los receptores, y/o composiciones que comprenden a los mismos, tal como se proporciona en la presente.

[000645] En algunas modalidades, el sujeto no es elegible para recibir un trasplante, tal como que no es elegible para recibir un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (HSCT), por ejemplo, un HSCT alogénico o un HSCT autólogo. En algunas de dichas modalidades, a dicho sujeto se le administran los receptores recombinantes antiGPRC5D (por ejemplo, CAR), células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), pluralidad de células diseñadas que expresan a los receptores, y/o

composiciones que comprenden a los mismos, de acuerdo con las modalidades que se proporcionan en la presente.

[000646] En algunas modalidades, antes de iniciar la administración de las células diseñadas, el sujeto ha recibido anteriormente una o más terapias. En algunas modalidades, el sujeto ha recibido por lo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 o más terapias previas. En algunas modalidades, el sujeto ha recibido por lo menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más terapias previas.

[000647] En algunos aspectos, el sujeto ha tenido una recaída o ha sido resistente a, una o más de, por ejemplo, cada una, individualmente, de la o las terapias previas. En algunos aspectos, las terapias previas incluyen tratamiento con trasplante de células progenitoras autólogo (ASCT); un agente inmunomodulador; un inhibidor del proteasoma; y un anticuerpo antiCD38; a menos que el sujeto no haya sido un candidato para o se le haya contraindicado recibir una o más de las terapias. En algunas modalidades, el agente inmunomodulador se selecciona de entre talidomida, lenalidomida o pomalidomida. En algunas modalidades, el inhibidor del proteasoma se selecciona de entre bortezomib, carfilzomib o ixazomib. En algunas modalidades, el anticuerpo antiCD38 es o comprende al daratumumab. En algunas modalidades, el sujeto debe haberse realizado por lo menos 2

ciclos consecutivos de tratamiento para cada régimen, a menos que la evolución de la enfermedad hubiese sido la mejor respuesta al régimen.

[000648] En algunas modalidades, el método puede involucrar la inclusión o exclusión de sujetos determinados para terapia con los anticuerpos antiGPRC5D proporcionados, receptores recombinantes y/o células que comprenden a dichos receptores, según criterios particulares, diagnósticos o indicaciones. En algunas modalidades, al momento de la administración de la dosis de células, el sujeto no ha tenido antecedentes de ni ha tenido activa leucemia de células plasmáticas (PCL). En algunas modalidades, si al momento de la administración el sujeto ha tenido antecedentes o ha tenido activa una PCL, se puede excluir al sujeto del tratamiento, conforme a los métodos proporcionados, En algunas modalidades, si al momento de la administración el sujeto desarrolla una PCL, tal como una PCL secundaria, se puede excluir al sujeto del tratamiento, conforme a los métodos proporcionados, En algunas modalidades, la evaluación para los criterios, el diagnóstico o la indicación puede realizarse en el momento del examen a los sujetos para determinar su elegibilidad o idoneidad del tratamiento conforme a los métodos proporcionados, en varios de los pasos del régimen de tratamiento, al momento de recibir la terapia de reducción de linfocitos, y/o inmediatamente antes o en el momento en el

que se va a iniciar la administración de las células diseñadas o de la composición de estas.

[000649] En algunas modalidades, el método puede involucrar la inclusión o exclusión de sujetos determinados para terapia con los anticuerpos antiGPRC5D y antiBCMA proporcionados, receptores recombinantes y/o células que comprenden a dichos receptores, según criterios particulares, diagnósticos o indicaciones. En algunas modalidades, al momento de la administración de la dosis de células, el sujeto no tenía actividad o antecedentes de leucemia de células plasmáticas (PCL). En algunas modalidades, si al momento de la administración el sujeto ha tenido antecedentes o ha tenido activa una PCL, se puede excluir al sujeto del tratamiento, conforme a los métodos proporcionados, En algunas modalidades, si al momento de la administración el sujeto desarrolla una PCL, tal como una PCL secundaria, se puede excluir al sujeto del tratamiento, conforme a los métodos proporcionados, En algunos procedimientos, la evaluación de los criterios, el diagnóstico o la indicación se puede realizar al momento de evaluar la elegibilidad o la idoneidad de los sujetos para el tratamiento, de acuerdo con los métodos provistos, en varios pasos del régimen de tratamiento, al momento de recibir la terapia de depleción linfocitaria y/o al momento del inicio de la administración

de las células diseñadas o su composición o inmediatamente antes de ello.

[000650] En algunas modalidades, el tratamiento no provoca una respuesta inmunitaria por parte del sujeto a la terapia, y/o no induce dicha respuesta al punto de evitar el tratamiento efectivo de la enfermedad o afección. En algunos aspectos, el grado de inmunogenia y/o injerto comparado con la respuesta del huésped es menor que aquella observada con un tratamiento comparable pero diferente. por ejemplo, en el caso de la terapia celular adoptiva que usa células que expresan CAR que incluyen los anticuerpos antiGPRC5D proporcionados, el grado de inmunogenia en algunas modalidades se reduce en comparación con CAR que incluyen un anticuerpo diferente que une a un similar, por ejemplo, epítopo superpuesto y/o que compite por la unión a GPRC5D con el anticuerpo, tal como un anticuerpo de ratón o mono o conejo o humanizado.

[000651] En algunas modalidades, los métodos incluyen terapia celular adoptiva, donde las células diseñadas que expresan los receptores recombinantes proporcionados que comprenden a una molécula de unión a GPRC5D (por ejemplo, CAR que comprenden anticuerpos antiGPRC5D o fragmentos de unión a antígeno de esto) se administran a sujetos. Dicha administración puede promover la activación de las células (por ejemplo, la activación de linfocito T) de una manera

dirigida a GPRC5D, de tal forma que las células de la enfermedad o trastorno se seleccionan para ser destruidas.

[000652] En algunas modalidades, los métodos incluyen la terapia celular adoptiva, por la cual las células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes proporcionados que comprenden una molécula de unión a GPRC5D (por ejemplo, CAR que comprenden un anticuerpo antiGPRC5D o un fragmento de unión a antígeno de esto) y células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes proporcionados que comprenden una molécula de unión a BCMA (por ejemplo, CAR que comprenden un anticuerpo antiBCMA o un fragmento de unión a antígeno de esto) se administran a los sujetos. En algunas modalidades, los métodos incluyen terapia celular adoptiva, donde las células diseñadas que expresan los receptores recombinantes proporcionados que comprenden a una molécula de unión a GPRC5D y una molécula de unión a BCMA (por ejemplo, CAR que comprenden anticuerpos antiGPRC5D y antiBCMA o fragmentos de unión a antígeno de esto).

[000653] Por lo tanto, los métodos y usos proporcionados incluyen métodos y usos para la terapia celular adoptiva. En algunas modalidades, los métodos incluyen la administración de las células o una composición que contiene a las células a un sujeto, tejido, o célula, tal como una que tiene, está en riesgo de tener, o se sospecha que tiene la enfermedad, afección o trastorno. En algunas modalidades, las células,

las poblaciones, y las composiciones se administran a un sujeto que tiene la enfermedad determinada o afección para ser tratada, por ejemplo, mediante terapia celular adoptiva, tal como terapia celular adoptiva de linfocito T. En algunas modalidades, las células o composiciones se administran al sujeto, tal como un sujeto que tiene o está en riesgo de tener la enfermedad o afección. En algunos aspectos, de ese modo los métodos tratan, por ejemplo, mejoran uno o más síntomas de la enfermedad o afección, como al reducir el peso del tumor en un cáncer con expresión de GPRC5D.

[000654] Los métodos para la administración de células para la terapia celular adoptiva son conocidos y pueden usarse en conexión con los métodos y composiciones proporcionadas. P. ej., los métodos de terapia celular adoptiva de linfocito T se describen en, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente de EE. UU. nro. 2003/0170238 a Gruenberg et al; patente de EE. UU. nro. 4,690,915 a Rosenberg; Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85). Véase, por ejemplo, Themeli et al. (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara et al. (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila *et al.* (2013) PLoS ONE 8(4): e61338.

[000655] En algunas modalidades, la terapia celular, por ejemplo, la terapia celular adoptiva, por ejemplo, la terapia celular adoptiva de linfocito T, se lleva a cabo mediante una transferencia autóloga, en la que las células son aisladas

y/o preparadas de otra forma para el sujeto que recibirá la terapia celular, o de una muestra que proviene de dicho sujeto. Por lo tanto, en algunos aspectos, las células provienen de un sujeto, por ejemplo, un paciente, que necesita un tratamiento y las células, luego del aislamiento y el procesamiento se administran al mismo sujeto.

[000656] En algunas modalidades, la terapia celular, por ejemplo, la terapia celular adoptiva, por ejemplo, la terapia celular adoptiva de linfocito T, se lleva a cabo mediante una transferencia alogénica, en la que las células son aisladas y/o preparadas de otra forma desde un sujeto que es diferente al sujeto que debe recibir o que finalmente recibirá la terapia celular, por ejemplo, un primer sujeto. En dichas modalidades, las células son entonces administradas a un sujeto diferente, por ejemplo, un segundo sujeto de la misma especie. En algunas modalidades, el primer y segundo sujeto son idénticos genéticamente. En algunas modalidades, el primer y segundo sujeto son similares genéticamente. En algunas modalidades, el segundo sujeto expresa la misma clase de HLA o supertipo que el primer sujeto.

[000657] En algunas modalidades, el sujeto, a quien las células, las poblaciones de células, o las composiciones, se administrarán, es un primate, tal como un humano. En algunas modalidades, el sujeto, a quien las células, las poblaciones de células, o las composiciones, se administrarán, es un

primate no humano. En algunas modalidades, el primate no humano es un mono (por ejemplo, el mono cynomolgus) o un simio. El sujeto puede ser masculino o femenino y puede tener cualquier edad apta, incluidos los sujetos infantiles, juveniles, adolescentes, adultos y geriátricos. En algunas modalidades, el sujeto es un primate no humano, tal como un roedor (por ejemplo, un ratón, una rata, etc.). En algunos ejemplos, el paciente o sujeto es un modelo animal validado para la enfermedad, terapia celular adoptiva, y/o para la evaluación de resultados tóxicos, tales como el síndrome de liberación de citocina (CRS).

[000658] Los receptores recombinantes de unión a GPRC5D (p. Ej., CAR) y las células que expresan lo mismo, pueden ser administrados mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, mediante inyección, por ejemplo, inyecciones intravenosas o subcutáneas, inyección intraocular, inyección periocular, inyección subretinal, inyección intravítrea, inyección transeptal, inyección subesclerótica, inyección intracoroidea, inyección intracameral, inyección subconjuntival, inyección subtenoniana, inyección retroocular, inyección periocular, o administración yuxtaescleral posterior. Los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, los receptores recombinantes de unión a BCMA, y los receptores recombinantes de unión a GPRC5D y a BCMA (por ejemplo, CAR) y las células que expresan lo mismo,

pueden ser administrados mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, mediante inyección, por ejemplo, inyecciones intravenosas o subcutáneas, inyección intraocular, inyección periocular, inyección subretinal, inyección intravítrea, inyección transeptal, inyección subesclerótica, inyección intracoroidea, inyección intracameral, inyección subconjuntival, inyección subtenoniana, inyección retroocular, inyección periocular, o administración yuxtaescleral posterior. En algunas modalidades, son administrados por vía parenteral, intrapulmonal e intranasal, y, si se lo desea para tratamiento local, la administración puede ser intralesional. Las infusiones parenterales incluyen a las administraciones intramusculares, intravenosas, intrarteriales, intraperitoneales, intracraneales, intratorácicas o subcutáneas. La dosis y el modo de administración puede depender en parte de si la administración es breve o crónica. Varios cronogramas de dosis incluyen, entre otros, administraciones únicas o múltiples en varios momentos, administración en embolada, e infusión pulsada.

[000659] Para la prevención o el tratamiento de una enfermedad, la dosis apropiada de la molécula de unión, el receptores recombinantes o la células puede depender del tipo de enfermedad que se debe tratar, el tipo de molécula de unión o receptores recombinantes, la gravedad y el curso de

la enfermedad, si la molécula de unión o el receptor recombinante se administra con motivos de prevención o terapéuticos, terapias previas, los antecedentes clínicos del paciente y la respuesta del receptor recombinante o célula, y el juicio del médico especialista. Las composiciones y las moléculas y las células son en algunas modalidades administradas adecuadamente al paciente en un momento o durante una serie de tratamientos.

[000660] En algunas modalidades, la dosis y/o frecuencia de la administración se determina según la eficacia y/o la respuesta. En algunas modalidades, la eficacia se evalúa midiendo el estado de la enfermedad. Algunos métodos ejemplares para evaluar el estado de la enfermedad incluyen la medida de la proteína M en los líquidos biológicos, tales como la sangre y/o la orina, mediante electroforesis e inmunofijación; la cuantificación de sFLC (κ y λ) en la sangre; serie ósea; y la toma de imágenes mediante la tomografía por emisión de positrones (PET)/tomografía computarizada (CT) en sujetos con enfermedades extramedulares. En algunas modalidades, el estado de la enfermedad puede evaluarse mediante el examen de la médula ósea.

[000661] En algunos ejemplos, la dosis y/o la frecuencia de la administración se determina mediante la expansión y persistencia del receptor recombinante o células en la sangre

y/o en la médula ósea. En algunas modalidades, la dosis y/o la frecuencia de la administración se determina según la actividad antitumoral del receptor recombinante o célula genomodificada. En algunas modalidades, la actividad antitumoral se determina mediante la tasa de respuesta global (ORR) y/o la International Myeloma Working Group (IMWG) Uniform Response Criteria (Véase Kumar et al. (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346). En algunas modalidades, la respuesta se evalúa usando la evaluación de leucemia residual mínima (MRD). En algunas modalidades, la MRD puede evaluarse mediante métodos tales como citometrías de flujo y secuenciación de alto rendimiento, por ejemplo, secuenciación exhaustiva. En algunas modalidades, la respuesta se evalúa según la duración de la respuesta luego de la administración del receptor recombinante o células. En algunos ejemplos, la dosis y/o la frecuencia de la administración puede hacerse según la toxicidad. En algunas modalidades, la dosis y/o la frecuencia de la administración puede hacerse según la calidad de vida relacionada con la salud (HRQoL) del sujeto a quien se le está(n) administrando el receptor recombinante y/o las células. En algunas modalidades, a dosis y/o la frecuencia de la administración puede cambiarse, es decir, se la puede aumentar o disminuir, según los criterios mencionados anteriormente.

[000662] En algunas modalidades, la enfermedad o trastorno para tratamiento es un mieloma múltiple. En algunas modalidades, los criterios mensurables de la enfermedad para el mieloma múltiple pueden incluir 1) 1 g/dL o más de proteína M en suero; 2) 200 mg o más en 24 horas de proteína M en orina; 3) nivel de 10 mg/dL o más en la cadena ligera libre en suero (sFLC) involucrada, con una tasa anormal κ to λ. En algunos casos, la enfermedad de cadena libre es aceptable únicamente en sujetos sin enfermedad mensurable en el suero u orina.

[000663] En algunas modalidades, el indicador de estado de desempeño del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) puede utilizarse para evaluar o seleccionar sujeto para tratamiento, por ejemplo, sujetos que han tenido un desempeño bajo en terapias anteriores (véase, p ej., Oken et al. (1982) Am J Clin Oncol. 5:649-655). La Escala sobre el Estado de Desempeño del ECOG describe el nivel de funcionamiento de un paciente desde el punto de vista de su capacidad para cuidar de sí mismo, de las actividades diarias, y de las habilidades físicas (p. Ej., caminar, trabajar, etc.). En algunas modalidades, un estado de desempeño del ECOG de 0 indica que un sujeto puede realizar actividades normalmente. En algunos aspectos, los sujetos con un estado de desempeño del ECOG de 1 muestran algunas restricciones en la actividad física, pero el sujeto puede deambular en su totalidad. En algunos

aspectos, pacientes con un estado de desempeño del ECOG de 2 pueden deambular en un 50 %. En algunos casos, el sujeto con un estado de desempeño del ECOG de 2 también puede ser capaz de cuidar de sí mismo; véase Sørensen et al., (1993) Br J Cancer 67(4) 773-775. En algunas modalidades, los sujetos a los que se les administrará de acuerdo con los métodos o régimen de tratamiento que se proporciona en la presente incluye a aquellos con un estado de desempeño de 0 o 1.

[000664] En algunas modalidades, la administración puede tratar al sujeto, a pesar de que el sujeto se haya vuelto resistente a otra terapia. En algunas modalidades, cuando se administra a los sujetos de acuerdo con las modalidades descritas en la presente, la dosis o la composición es capaz de alcanzar una respuesta objetivo (OR), en por lo menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 95 % de los sujetos a los que se administró. En algunas modalidades, la OR incluye a sujetos que alcanzan una respuesta completa restrictiva (sCR), respuesta completa (CR), muy buena respuesta parcial (VGPR), respuesta parcial (PR) y respuesta mínima (MR). En algunas modalidades, cuando se administra a los sujetos de acuerdo con las modalidades descritas en la presente, la dosis o la composición es capaz de alcanzar una respuesta completa restrictiva (sCR), respuesta completa (CR), muy buena respuesta parcial (VGPR) o respuesta parcial (PR) en por lo menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, u 85 % de los sujetos

a los que se administró. En algunas modalidades, cuando se administra a los sujetos de acuerdo con las modalidades descritas en la presente, la dosis o la composición es capaz de alcanzar una respuesta completa restrictiva (sCR) o una respuesta completa (CR) en por lo menos el 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 % o 70 % de los sujetos a los que se administró. En algunas modalidades, dosis ejemplares incluyen aproximadamente 5.0×10^7, 1.5×10^8, 3.0×10^8 o 4.5×10^8 de linfocitos T que expresan CAR. En algunas modalidades, dosis ejemplares incluyen aproximadamente 1.0×10^7, 1.25×10^7, 1.5×10^7, 2.0×10^7, 2.0×10^7, 2.5×10^7, 3.0×10^7, 3.5×10^7, 4.0×10^7, 4.5×10^7, 5.0×10^7, 1.5×10^8, 3.0×10^8 o 4.5×10^8 de linfocitos T que expresan CAR. En algunos aspectos, la respuesta determinada al tratamiento, por ejemplo, conforme a los métodos proporcionados en la presente, pueden evaluarse según el International Myeloma Working Group (IMWG) Uniform Response Criteria (véase Kumar et al. (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346). En algunas modalidades, las dosis ejemplares para alcanzar resultados determinados, tales como OR, incluyen aproximadamente 5.0×10^7 de linfocitos T que expresan CAR.

[000665] En algunas modalidades, la toxicidad y/o los efectos secundarios del tratamiento pueden ser supervisados u utilizados para ajustar la dosis y/o la frecuencia de administración del receptor recombinante, por ejemplo, CAR,

células y/o composiciones. Por ejemplo, los eventos adversos y las anomalías de laboratorio pueden supervisarse u utilizarse para ajustar la dosis y/o la frecuencia de la administración. Los eventos adversos incluyen reacciones a las infusiones, el síndrome de liberación de citocina (CRS), neurotoxicidad, el síndrome de activación de macrófago, y el síndrome de lisis tumoral (TLS). Cualesquiera de dichos eventos pueden establecer toxicidades que limitan las dosis y justifican una disminución de las dosis y/o la interrupción del tratamiento. Otros efectos secundarios o eventos adversos que pueden usarse como directrices para establecer la dosis y/o la frecuencia de la administración incluyen eventos adversos no hematológicos que incluyen, entre otros, fatiga, neutrocitopenia febril o con fiebre, aumento de las transaminasas durante un periodo fijo, por ejemplo, menos o exactamente 2 semanas o menos o exactamente 7 días), dolor de cabeza, dolor de los huesos, hipotensión, hipoxia, escalofríos, diarrea, náusea/vómitos, neurotoxicidad (por ejemplo, confusión, afasia, epilepsia, convulsiones, letargo, y/o estados mentales alterados), coagulación intravascular diseminada, otras anomalías de laboratorio no hematológicas asintomáticas, tales como anomalías electrolíticas. Otros efectos secundarios o eventos adversos que pueden usarse como directrices para establecer la dosis y/o la frecuencia de la administración incluyen eventos adversos hematológicos, que

incluyen, entre otros, neutrocitopenia, leucocitopenia, trombocitopenia, animal, y/o aplasia de linfocitos B e hipogammaglobulinemia.

[000666] En algunas modalidades, el tratamiento conforme a los métodos proporcionados puede dar como resultado una tasa menor y/o un grado menor de toxicidad, resultado tóxico o síntoma, perfil que favorece a la toxicidad, factor, o propiedad, tal como un síntoma o resultado asociado con, o que indica la presencia del síndrome de liberación de citocina (CRS) o neurotoxicidad, tal como CRS grave o neurotoxicidad grave, por ejemplo, en comparación con la administración de otras terapias.

[000667] En ciertas modalidades, en el contexto de células diseñadas que contienen a las molécula de unión o a los receptores recombinantes, a un sujeto se le administra la serie de aproximadamente un millón a aproximadamente 100 mil millones de células y/o esa cantidad de células por kilogramo de peso corporal, tal como, por ejemplo, aproximadamente 1 millón a aproximadamente 50 mil millones de células (por ejemplo, aproximadamente 5 millones de células, aproximadamente 10 millones, aproximadamente 12.5 millones, aproximadamente15 millones, aproximadamente 20 millones de células, aproximadamente 25 millones de células, aproximadamente 500 millones de células, aproximadamente 1 mil millones de células, aproximadamente 5 mil millones de

células, aproximadamente 20 mil millones de células, aproximadamente 30 mil millones de células, aproximadamente 40 mil millones de células, o una serie definida por cualquiera de los dos valores mencionados anteriormente), tales como aproximadamente 10 millones a aproximadamente 100 mil millones de células (por ejemplo, aproximadamente 10 millones de células, aproximadamente 12.5 millones de células, aproximadamente 15 millones de células, 20 millones de células, aproximadamente 25 millones de células, aproximadamente 30 millones de células, aproximadamente 40 millones de células, aproximadamente 50 millones de células, aproximadamente 60 millones de células, aproximadamente 70 millones de células, aproximadamente 80 millones de células, aproximadamente 90 millones de células, aproximadamente 10 mil millones de células, aproximadamente 25 mil millones de células, aproximadamente 50 mil millones de células, aproximadamente 75 mil millones de células, aproximadamente 90 mil millones de células, o una serie definida por cualquiera de los dos valores mencionados anteriormente), y en algunos casos aproximadamente 100 millones de células a aproximadamente 50 mil millones de células (por ejemplo, aproximadamente 120 millones de células, aproximadamente 150 millones de células, aproximadamente 250 millones de células, aproximadamente 300 millones de células, aproximadamente 350 millones de células, aproximadamente 450 millones de células,

aproximadamente 500 millones de células, aproximadamente 600 millones de células, aproximadamente 650 millones de células, aproximadamente 800 millones de células, aproximadamente 900 millones de células, aproximadamente 1 mil millones de células, aproximadamente 1.2 mil millones de células, aproximadamente 3 mil millones de células, aproximadamente 30 mil millones de células, aproximadamente 45 mil millones de células, o aproximadamente 50 mil millones de células) o cualquier valor entre estas series y/o por kilo de peso corporal. Nuevamente, las dosificaciones pueden variar de acuerdo con los atributos determinados de la enfermedad o trastorno y paciente y/u otros tratamientos.

[000668] En algunas modalidades, los métodos comprenden la administración de una dosis de las células diseñadas o una composición que comprende una dosis de las células diseñadas. En algunas modalidades, las células diseñadas o las composiciones que contienen a las células diseñadas pueden ser utilizadas en un régimen de tratamiento, donde el régimen de tratamiento comprende la administración de una dosis de las células diseñadas o una composición que comprende a una dosis de las células diseñadas. En algunas modalidades, la dosis puede contener, por ejemplo, un número o serie determinada de linfocitos T que expresan al receptor recombinante, un total de linfocitos T, o un total de leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC),

tales como cualquier número de dichas células aquí descritas. En algunas modalidades, una composición que contiene una dosis de las células puede administrarse. En algunos aspectos, el número, la cantidad o la proporción de células que expresan CAR en una población de células o en una composición de células puede ser evaluada mediante la detección de un marcador indirecto, por ejemplo, mediante citometría de flujo u otros medios, o mediante la detección de unión de una molécula marcada, tal como un antígeno marcado, que puede unirse específicamente a las moléculas de unión o a los receptores proporcionados en la presente.

[000669] En algunas modalidades,, p. ej.,, en donde el sujeto es humano, la dosis incluye más que aproximadamente un total de 1 x 10^6 de células que expresan al receptor recombinante (por ejemplo, CAR), linfocitos T, o leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), y menos que aproximadamente un total de 2 x 10^9 de células que expresan al receptor recombinante (por ejemplo, CAR), linfocitos T, o leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), por ejemplo, en la serie de aproximadamente 2.5 x 10^7 a aproximadamente 1.2 x 10^9 de dichas células, tales como un total de 2.5 x 10^7, 5 x 10^7, 1.5 x 10^8, 3 x 10^8, 4.5 x 10^8, 8 x 10^8,o 1.2 x 10^9 de dichas células, o la serie entre cualquiera de los dos valores mencionados anteriormente. En algunas modalidades,, p. ej.,,

en donde el sujeto es humano, la dosis incluye más que aproximadamente un total de 1 x 10^6 de células que expresan al receptor recombinante (por ejemplo, CAR), linfocitos T, o leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), y menos que aproximadamente un total de 2 x 10^9 de células que expresan al receptor recombinante (por ejemplo, CAR), linfocitos T, o leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), por ejemplo, en la serie de aproximadamente 1.0 x 10^7 a aproximadamente 1.2 x 10^9 de dichas células, tales como un total de 1.0 x 10^7, 1.25 x 10^7, 1.5 x 10^7, 2.0 x 10^7, 2.5 x 10^7, 5 x 10^7, 1.5 x 10^8, 3 x 10^8, 4.5 x 10^8, 8 x 10^8,o 1.2 x 10^9 de dichas células, o la serie entre cualquiera de los dos valores mencionados anteriormente. En algunas modalidades,, p. ej.,, en donde el sujeto es humano, la dosis incluye más que aproximadamente un total de 1 x 10^6 de células que expresan al receptor recombinante (por ejemplo, CAR), linfocitos T, o leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), y menos que aproximadamente un total de 2 x 10^9 de células que expresan al receptor recombinante (por ejemplo, CAR), linfocitos T, o leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), por ejemplo, en la serie de aproximadamente 1.0 x 10^7 a aproximadamente 6.5 x 10^8 de dichas células, aproximadamente 1.5 x 10^7 a 6.0 x 10^8 de dichas células, aproximadamente 1.5 x 10^7 a aproximadamente

6.5 x 10^8 de dichas células, aproximadamente 2.5 x 10^7 a 6 x 10^8 de dichas células, o aproximadamente 5.0 x 10^7 a aproximadamente 6.0 x 10^8 de dichas células.

[000670] En algunas modalidades, la dosis de células genomodificadas comprende aproximadamente o exactamente 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR, un total de linfocitos T, o un total de leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), y aproximadamente o exactamente 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, un total de linfocitos T, o un total de PBMC, entre o aproximadamente 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y aproximadamente o exactamente 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, un total de linfocitos T, o leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), entre o aproximadamente 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y aproximadamente o exactamente 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR , un total de linfocitos T, o un total de PBMC, cada uno de ellos con inclusión. En algunas modalidades, el número es con referencia al número total de CD3+ o CD8+, en algunos casos, también células que expresan CAR (por ejemplo, CAR+). En algunas modalidades, la dosis comprende un número de células desde o desde aproximadamente 2.5 x 10^7 a o a aproximadamente 1.2 x 10^9 de linfocitos T CD3+ o CD8+ en total o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, desde o aproximadamente desde 5.0 x 10^7 a o a aproximadamente 4.5 x 10^8 de linfocitos T CD3+ o CD8+ en total o células que

expresan CAR CD3+ o CD8+, o desde o aproximadamente desde 1.5 x 10^8 a o a aproximadamente 3.0 x 10^8 de linfocitos T CD3+ o CD8+ en total o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, cada una de ellas con inclusión.

[000671] En algunas modalidades, la dosis de células diseñadas comprende aproximadamente o exactamente 1.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR, un total de linfocitos T, o un total de leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), y aproximadamente o exactamente 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, un total de linfocitos T, o un total de PBMC, entre o aproximadamente 2.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y aproximadamente o exactamente 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, un total de linfocitos T, o leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica (PBMC), entre o aproximadamente 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y aproximadamente o exactamente 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR , un total de linfocitos T, o un total de PBMC, cada uno de ellos con inclusión. En algunas modalidades, el número es con referencia al número total de CD3+ o CD8+, en algunos casos, también células que expresan CAR (por ejemplo, CAR+). En algunas modalidades, la dosis comprende un número de células desde o desde aproximadamente 1.0 x 10^7 a o a aproximadamente 1.2 x 10^9 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD8+ o CD3+ desde o aproximadamente desde 1.5 x 10^7 a o a

aproximadamente 1.2 x 10^9 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, desde o aproximadamente desde 2.5 x 10^7 a o a aproximadamente 1.2 x 10^9 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ células que expresan CAR CD3+ o CD8+, desde o aproximadamente desde 1.5 x 10^7 a o a aproximadamente 8.0 x 10^8 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, desde o aproximadamente desde 2.5 x 10^7 a o a aproximadamente 8.0 x 10^8 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, desde o aproximadamente desde 1.5 x 10^7 a o a aproximadamente 6.0 x 10^8 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, desde o aproximadamente desde 2.5 x 10^7 a o a aproximadamente 6.0 x 10^8 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, desde o aproximadamente desde 5.0 x 10^7 a o a aproximadamente 6.0 x 10^8 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, desde o aproximadamente desde 5.0 x 10^7 a o a aproximadamente 4.5 x 10^8 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, o desde o aproximadamente desde 1.5 x 10^8 a o a aproximadamente 3.0 x 10^8 de total de linfocitos T CD3+ o CD8+ o células que expresan CAR CD3+ o CD8+, cada uno de ellos con inclusión.

[000672] En algunas modalidades, los linfocitos T de la dosis incluyen linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, o linfocitos T CD4+ y CD8+.

[000673] En algunas modalidades, por ejemplo, en donde el sujeto es humano, los linfocitos T CD8+ de la dosis, incluidos en una dosis que incluye linfocitos T CD4+ y CD8+, incluye entre o aproximadamente 1 x 106 y aproximadamente o exactamente 2 x 10^9 de células CD8+ que expresan al receptor recombinante (por ejemplo, CAR), por ejemplo, en la serie de aproximadamente o exactamente 5 x 10^7 a o a aproximadamente 4.5 x 10^8 de dichas células tales como aproximadamente o exactamente 2.5 x 10^7, aproximadamente o exactamente 5 x 10^7, aproximadamente o exactamente 1.5 x 10^8, aproximadamente o exactamente 3 x 10^8, aproximadamente o exactamente 4.5 x 10^8, aproximadamente o exactamente 8 x 10^8, o aproximadamente o exactamente 1.2 x 10^9 en total de dichas células, o la serie entre cualquiera de los dos valores mencionados anteriormente.

[000674] En algunas modalidades, por ejemplo, en donde el sujeto es humano, los linfocitos T CD8+ de la dosis, incluidos en una dosis que incluye linfocitos T CD4+ y CD8+, incluye entre o aproximadamente 1 x 106 y aproximadamente o exactamente 2 x 10^9 de células que expresan al receptor recombinante (por ejemplo, CAR), por ejemplo, en la serie de aproximadamente o exactamente 1 x 10^7 a o a aproximadamente

4.5 x 10^8 de dichas células, tales como aproximadamente o exactamente 1.0 x 10^7, aproximadamente o exactamente 1.25 x 10^7, aproximadamente o exactamente 1.5 x 10^7, aproximadamente o exactamente 2.0 x 10^7, aproximadamente o exactamente 2.5 x 10^7, aproximadamente o exactamente 5 x 10^7, aproximadamente o exactamente 1.5 x 10^8, aproximadamente o exactamente 3 x 10^8, aproximadamente o exactamente 4.5 x 10^8, aproximadamente o exactamente 8 x 10^8, o aproximadamente o exactamente 1.2 x 10^9 de dichas células, o la serie entre cualquiera de los dos valores mencionados anteriormente.

[000675] En algunas modalidades, la dosis de células, por ejemplo, linfocitos T que expresan al receptor recombinante, se administra al sujeto como una dosis única o se administra solo una vez en un lapso de dos semanas, un mes, tres meses, seis meses, 1 año, o más. En algunas modalidades, al paciente se le administran varias dosis, y cada una de las dosis o la dosis total puede encontrarse dentro de cualesquiera de los valores mencionados anteriormente.

[000676] En algunas modalidades, las células diseñadas para la administración o la composición de las células diseñadas exhiben propiedades que indican o son coherentes con la salud celular. En algunas modalidades, aproximadamente o exactamente o por lo menos aproximadamente o exactamente el 70, 75, 80, 85, o 90 % de las células CAR+ de dicha dosis exhiben una o más propiedades o fenotipos que son indicadores

de salud celular o célula CAR biológicamente activa, tal como ausencia de expresión de un marcador apoptótico.

[000677] En determinadas modalidades, el fenotipo es o incluye una ausencia de apoptosis y/o una indicación de que la célula está llevando a cabo el proceso apoptótico. La apoptosis es un proceso de muerte celular programada que incluye una serie de eventos morfológicos y bioquímicos estereotipados que llevan a cambios característicos en la célula y su muerte, incluida la zeiosis, encogimiento de la célula, fragmentación del núcleo, condensación de la cromatina, fragmentación del AND cromosómico y descomposición global del ARNm. En algunos aspectos, las etapas tempranas de la apoptosis pueden ser indicadas por la activación de ciertas caspasas, por ejemplo, 2, 8, 9 y 10. En algunos aspectos, las etapas intermedias a tardías de la apoptosis están caracterizadas por una mayor pérdida de la integridad de la membrana, condensación de la cromatina y fragmentación del ADN, incluyen eventos bioquímicos tales como la activación de las caspasas 3, 6 y 7.

[000678] En determinadas modalidades, el fenotipo es una expresión negativa de uno o más factores asociados con la muerte celular programada, por ejemplo, factores que favorecen la apoptosis que son conocidos por iniciar el proceso apoptótico, por ejemplo, miembros de la vía del receptor de muerte, miembros activados de la vía mitocondrial

(intrínseca), tales como los miembros de la familia Bcl-2, por ejemplo, Bax, Bad, y Bid, y las caspasas. En ciertas modalidades, el fenotipo es la ausencia de un indicador, por ejemplo, una molécula anexina V o mediante tinción con TUNEL, que preferentemente se unirá a células que están atravesando la apoptosis cuando se incube con o estén en contacto con una composición celular. En algunas modalidades, el fenotipo es o incluye la expresión de uno o más marcadores que indican un estado apoptótico en la célula. En algunas modalidades, el fenotipo carece de expresión y/o activación de caspasa, tal como caspasa 3. En algunos aspectos, la activación de caspasa-3 indica un aumento o resurgimiento de la apoptosis. En ciertas modalidades, la activación de caspasa puede detectarse mediante métodos conocidos. En algunas modalidades, un anticuerpo que se une específicamente a una caspasa activada (es decir, se une específicamente al polipéptido escindido) puede ser usado para detectar la activación de la caspasa. En determinadas modalidades, el fenotipo es o incluye una caspasa-3 activada. En algunas modalidades, el marcador de apoptosis es un reactivo que detecta una característica en una célula que está asociada con la apoptosis. En ciertas modalidades, el reactivo es una molécula anexina V.

[000679] En algunas modalidades, las composiciones que contienen a las células diseñadas para la administración

contienen cierto número o cantidad de células que exhiben fenotipos que indican o son coherentes con la salud celular. En algunas de cualesquiera modalidades, menos de aproximadamente el 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % de los linfocitos que expresan CAR en la dosis de linfocitos genomodificadas expresan un marcador de apoptosis, opcionalmente anexina V o caspasa 3 activa. En algunas de cualesquiera modalidades, menos del 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % de los linfocitos que expresan CAR en la dosis de linfocitos genomodificadas expresan anexina V o caspasa 3 activa.

[000680] En algunas modalidades, las células administradas son células inmunes genomodificadas para expresar el receptor recombinante de unión a GPRC5D, por ejemplo, CAR. En algunas modalidades, las células inmunes son linfocitos T. En algunas modalidades, las células administradas son linfocitos T CD4+. En algunas modalidades, las células administradas son linfocitos T CD8+. En algunas modalidades, las células administradas son una combinación de linfocitos T CD4+ y CD8+, tales como linfocitos T CAR. En algunos ejemplos, las tasas de células CD4+ a CD8+ (CD4:CD8) es 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1.

[000681] En algunas modalidades, las células, las moléculas de unión, o los receptores recombinantes se administran como

parte de un tratamiento combinado, tal como en simultáneo con o secuencialmente con, en cualquier orden, otra intervención terapéutica, tal como otro anticuerpo o célula genomodificada o receptor o agente, tal como un agente citotóxico o terapéutico.

[000682] Las células, moléculas de unión y/o receptores recombinantes en alginas modalidades se coadministran con uno o más agentes terapéuticos adicionales o en conexión con otra intervención terapéutica, ya sea simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden. En algunos contextos, las células se coadministran con otra terapia lo suficientemente cerca en el tiempo de forma que la población de células realza el efecto de uno o más agentes terapéuticos adicionales, o viceversa. En algunas modalidades, las células, las moléculas de unión y/o los receptores recombinantes se administran antes de o de los agentes terapéuticos adicionales. En algunas modalidades, las células, las moléculas de unión y/o los receptores recombinantes se administran después de o de los agentes terapéuticos adicionales.

[000683] En algunas modalidades, el sujeto puede recibir un tratamiento transitorio luego de la leucocitaféresis y antes de la quimioterapia de reducción de linfocitos. Un médico especialista puede determinar si el tratamiento transitorio es necesario, por ejemplo, para el control de enfermedades,

durante la fabricación de la composición o células proporcionadas. En algunas modalidades, los tratamientos transitorios no incluyen agentes biológicos, tales como anticuerpos (por ejemplo, daratumumab). En algunas modalidades, se interrumpen los tratamientos transitorios antes de iniciar con la reducción de linfocitos. En algunas modalidades, los tratamientos transitorios se interrumpen 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 7 días, 10 días, 14 días, 21 días, 28 días, 45 días, o 60 días antes de la reducción de linfocitos.

[000684] Una vez que las células son administradas a un mamífero (p. Ej., un humano), la actividad biológica de las poblaciones de las células genomodificadas y/o anticuerpo en algunos aspectos se mide mediante cualquiera de una serie de métodos conocidos. Los parámetros para la evaluación incluyen la unión específica de un linfocito T natural o genomodificadas u otra célula o antígeno inmune, in vivo, por ejemplo, mediante toma de imágenes, o ex vivo, por ejemplo, mediante ELISA o citometría de flujo. En ciertas modalidades, la capacidad de las células diseñadas para destruir células diana puede medirse utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica, tal como ensayos de citotoxicidad descritos en, por ejemplo, Kochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009), y Herman et al. *J. Immunological Methods*, 285(1): 25-40 (2004). En ciertas

modalidades, la actividad biológica de las células también puede medirse mediante la modalidad de ensayos sobre la expresión y/o secreción de ciertas citocinas, tales como CD 107a, IFNγ, IL-2, y TNF. En algunos aspectos, la actividad biológica se mide mediante la evaluación del resultado clínico, tal como la reducción del peso o carga del tumor.

[000685] En ciertas modalidades, las células diseñadas se modifican en una cantidad indeterminada de maneras, de forma tal que su eficacia terapéutica o profiláctica se incrementa. Por ejemplo, el CAR o TCR genomodificado expresado por la población en algunas modalidades se conjuga ya sea directa o indirectamente mediante un conector a una porción seleccionada. La práctica de conjugar compuestos, por ejemplo, el CAR o TCR, a porciones seleccionadas es conocida en la técnica. Véase, por ejemplo, Wadwa et al., J. Drug Targeting, 3(2):111 (1995), y la Patente de EE. UU. 5,087,616.

B. Terapias de combinación

[000686] También se proporcionan métodos para combinar terapias que incluyen la administración y los usos, tales como usos terapéuticos y profilácticos, de los receptores recombinantes de unión a GPRC5D (por ejemplo, CAR), células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), pluralidad de células diseñadas que expresan a los receptores y/o composiciones que comprenden lo mismo.

También se proporcionan métodos para combinar terapias que incluyen la administración y los usos, tales como usos terapéuticos y profilácticos, de los receptores recombinantes de unión a GPRC5D y de unión a BCMA (por ejemplo, CAR), células diseñadas que expresan a los receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), pluralidad de células diseñadas que expresan a los receptores y/o composiciones que comprenden lo mismo.

[000687] En algunas modalidades, el receptor recombinante de unión a GPRC5D (por ejemplo, CAR) y/o las células diseñadas que expresan a dichas moléculas ((por ejemplo, receptor recombinante) aquí descritas se administran como parte de un tratamiento de combinación o terapia de combinación, tal como en simultáneo con o secuencialmente con, o con intermitencia con, en cualquier orden, una o más intervenciones terapéuticas adicionales. En algunas modalidades, la o las intervenciones terapéuticas adicionales incluyen, por ejemplo, un anticuerpo, una célula genomodificada, un receptor y/o un agente, tal como una célula que expresa a un receptor recombinante, y/o un agente citotóxico o terapéutico, por ejemplo, un agente de quimioterapia. En algunas modalidades, la terapia de combinación incluye la administración de uno o más agentes adicionales, terapias y/o tratamientos, por ejemplo, cualesquiera de los agentes, terapias y/o tratamientos adicionales aquí descritos. En

algunas modalidades, la terapia de combinación incluye la administración de uno o más agentes adicionales para tratamiento o terapia, tal como agentes inmunomoduladores, inhibidores del punto de control inmunitario, vía de adenosina o agonista o antagonista del receptor de adenosina e inhibidores de cinasa. En algunas modalidades, el tratamiento de combinación o la terapia de combinación incluye un tratamiento adicional, tal como un tratamiento quirúrgico, trasplante, y/o radioterapia. También se proporcionan métodos para tratamientos de combinación o terapias de combinación que incluyen receptores recombinantes de unión a GPRC5D (p. Ej., CAR), células y/o composiciones aquí descritas y una o más intervenciones terapéuticas adicionales.

[000688] En algunas modalidades, el receptor recombinante de unión a GPRC5D, el receptor recombinante de unión a BCMA y el receptor recombinante de unión a GPRC5D y de unión a BCMA (por ejemplo, CAR) y/o las células diseñadas que expresan a dichas moléculas ((por ejemplo, receptor recombinante) aquí descritas se administran como parte de un tratamiento de combinación o terapia de combinación, tal como en simultáneo con o secuencialmente con, o con intermitencia con, en cualquier orden, una o más intervenciones terapéuticas adicionales. En algunas modalidades, la o las intervenciones terapéuticas adicionales incluyen, por ejemplo, un

anticuerpo, una célula genomodificada, un receptor y/o un agente, tal como una célula que expresa a un receptor recombinante, y/o un agente citotóxico o terapéutico, por ejemplo, un agente de quimioterapia. En algunas modalidades, la terapia de combinación incluye la administración de uno o más agentes, terapias y/o tratamientos adicionales, por ejemplo, cualquiera de los agentes, terapia y/o tratamientos adicionales descritos aquí. En algunas modalidades, la terapia de combinación incluye la administración de uno o más agentes adicionales para tratamiento o terapia, tal como agentes inmunomoduladores, inhibidores del punto de control inmunitario, vía de adenosina o agonista o antagonista del receptor de adenosina e inhibidores de cinasa. En algunas modalidades, el tratamiento combinado o la terapia combinada incluye un tratamiento adicional, tal como un tratamiento quirúrgico, trasplante y/o radioterapia. También se proporcionan métodos para tratamientos de combinación o terapias de combinación que incluyen receptores recombinantes de unión a GPRC5D, receptores recombinantes de unión a BCMA, receptores recombinantes de unión a GPRC5D y de unión a BCMA (por ejemplo, CAR), células y/o composiciones aquí descritas y una o más intervenciones terapéuticas adicionales.

[000689] En algunas modalidades, el agente adicional para el tratamiento de combinación o la terapia de combinación realza, estimula y/o promueve la eficacia y/o la seguridad

del efecto terapéutico de las moléculas de unión, los receptores recombinantes, las células y/o las composiciones. En algunas modalidades, el agente adicional realza o mejora la eficacia, la supervivencia o la permanencia de las células administradas, por ejemplo, células que expresan a la molécula de unión o al receptor recombinante. En algunas modalidades, el agente adicional es seleccionado de entre una proteína inhibidora de fosfatasa, un inhibidor de cinasa, una citocina, un inmunomodulador o un agente que disminuye el nivel o la actividad de un linfocito T (Treg) regulador. En algunas modalidades, el agente adicional realza la seguridad, en virtud de reducir o mejorar los efectos adversos de las moléculas de unión, los receptores recombinantes, las células y/o las composiciones administradas. En algunas modalidades, el agente adicional puede tratar la misma enfermedad, afección o una enfermedad asociada. En algunas modalidades, el agente adicional puede mejorar, reducir o eliminar una o más toxicidades, efectos adversos o efectos secundarios que están asociados con la administración de los receptores recombinantes, las células y/o las composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR.

[000690] En algunas modalidades, los medicamentos para controlar el dolor, tales como el paracetamol o los antihistamínicos, tales como la difenhidramina pueden administrarse antes de, durante o después de la

administración del receptor recombinante, célula o composición aquí proporcionados, para mejorar o reducir o eliminar efectos secundarios menores asociados con el tratamiento. En algunos ejemplos, las transfusiones de glóbulos rojos y plaquetas, y/o factores que estimulan colonias pueden administrarse para reducir o eliminar una o más toxicidades, efectos adversos o efectos secundarios que están asociados con la administración de los receptores recombinantes, las células y/o las composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR. En algunas modalidades, agentes antiinfecciosos empíricos o profilácticos (por ejemplo, profilaxis con trimetoprim/sulfamethoxazole para la neumonía neumocistósica [PCP], antibióticos de amplio espectro, antimicóticos, o agentes antivirales para la neutrocitopenia febril) pueden administrarse para tratar los efectos secundarios provocados por el tratamiento. En algunos ejemplos, cuando es necesario, la profilaxis puede proporcionarse para tratar la linfocitopenia y/o la neutrocitopenia producida como resultado del tratamiento.

[000691] En algunas modalidades, la terapia, tratamiento o agente adicional incluye quimioterapia, radioterapia, cirugía, trasplantes, terapia celular adoptiva, anticuerpos, agentes citotóxicos, agentes quimioterapéuticos, citocinas, agentes inhibidores del crecimientos, agentes antihormonales, inhibidores de la cinasa, agentes antiangiogénicos,

protectores del corazón, agentes inmunoestimuladores, agentes inmunodepresores, inhibidores del punto de control inmunitario, antibióticos, inhibidores de la angiogénesis, moduladores metabólicos u otros agentes terapéuticos o cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el agente adicional es una proteína, un péptido, un ácido nucleico, un agente de molécula pequeña, una célula, una toxina, un lípido, un carbohidrato o combinaciones de estos, o cualquier otro tipo de agente terapéutico, por ejemplo, radiación. En algunas modalidades, la terapia, agente o tratamiento adicional incluye cirugía, quimioterapia, radioterapia, trasplante, administración de células que expresan un receptor recombinante, por ejemplo, CAR, inhibidor de la de la cinasa, inhibidor del punto de control inmunitario, inhibidor de la vía mTOR, agentes inmunodepresores, agentes inmunomoduladores, anticuerpos, agentes inmunoablativos, fragmentos de unión a antígeno y/o a anticuerpo de esto, conjugados de anticuerpos, otras terapias de anticuerpos, citotoxinas, esteroides, citocinas, vacunas peptídicas, terapia hormonal, antimetabolitos, moduladores metabólicos, fármacos que inhiben o bien la calcineurina fosfatasa que depende del calcio o la cinasa p70S6 FK506 o inhibe la cinasa p70S6, agentes alquilantes, antraciclinas, alcaloides de la vinca, inhibidores de proteasoma, agonistas GITR, inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa,

inhibidores de la proteína cinasa, un virus oncolítico, y/u otros tipos de inmunoterapia. En algunas modalidades, el agente o tratamiento adicional es el trasplante de médula ósea, terapia ablativa de linfocitos T usando agentes quimioterapéuticos tales como fludarabina, radioterapia externa (XRT), ciclofosfamida, y/o terapia con anticuerpos.

[000692] En algunas modalidades, las células, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D y/o composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR, se administran en combinación con otras células diseñadas, por ejemplo, otras células que expresan CAR. En algunas modalidades, las células, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D y/o composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR, se administran en combinación con un agente adicional. En algunas modalidades, las células, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D y/o composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR, se administran en combinación con otras células diseñadas, por ejemplo, otras células que expresan CAR, así como también en combinación con un agente adicional. En algunas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de cinasa, por ejemplo, un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (Btk), por ejemplo, ibrutinib. En algunas modalidades, el agente adicional es una vía de adenosina o un agonista o antagonista del receptor de adenosina. En algunas modalidades, el agente adicional es un

inmunomodulador tal como la talidomida o un derivado de la talidomida (por ejemplo, lenalidomida). En algunas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de la gamma secretasa, tal como el inhibidor de la gamma secretasa que inhibe o reduce la escisión de una diana de una gamma secretasa, por ejemplo, GPRC5D, en una célula (tal como una célula tumoral o de cáncer). En algunas modalidades, la terapia, agente o tratamiento adicional es un agente citotóxico o de quimioterapia, una terapia biológica (por ejemplo, un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, o terapia celular), o un inhibidor (por ejemplo, un inhibidor de cinasa).

[000693] En determinadas modalidades, las células, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, los receptores recombinantes de unión a BCMA, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D y BCMA, y/o las composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR se administran en combinación con otras células diseñadas, por ejemplo, otras células que expresan CAR. En determinadas modalidades, las células, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, los receptores recombinantes de unión a BCMA, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D y BCMA, y/o las composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR, se administran en combinación con un agente adicional. En determinadas modalidades, las células, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, los

receptores recombinantes de unión a BCMA, los receptores recombinantes de unión a GPRC5D y BCMA, y/o las composiciones, por ejemplo, células que expresan CAR, se administran en combinación con otras células diseñadas, por ejemplo, otras células que expresan CAR, así como en combinación con un agente adicional. En algunas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de cinasa, por ejemplo, un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (Btk), por ejemplo, ibrutinib. En algunas modalidades, el agente adicional es una vía de adenosina o un agonista o antagonista del receptor de adenosina. En algunas modalidades, el agente adicional es un inmunomodulador tal como la talidomida o un derivado de la talidomida (por ejemplo, lenalidomida). En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de gamma-secretasa, tal como un inhibidor de gamma-secretasa que inhibe o reduce la escisión intramembrana de una diana de una gamma-secretasa, por ejemplo, GPRC5D y/o BCMA, en una célula (tal como una célula tumoral/cancerosa). En algunas modalidades, la terapia, agente o tratamiento adicional es un agente citotóxico o de quimioterapia, una terapia biológica (por ejemplo, un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, o terapia celular), o un inhibidor (por ejemplo, un inhibidor de cinasa).

[000694] En determinadas modalidades, el agente adicional es un agente quimioterapéutico. Algunos agentes

quimioterapéuticos ejemplares incluyen una antraciclina (por ejemplo, doxorrubicina, tal como doxorrubicina liposómica); un alcaloide de la vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina); un agente alquilante (por ejemplo, ciclofosfamida, decarbazina, melfalano, ifosfamida, temozolomida); un anticuerpo de célula inmunitaria (por ejemplo, alemtuzumab, gemtuzumab, rituximab, tositumomab); un antimetabolito (que incluye, por ejemplo, antagonistas del ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa tales como fludarabina); un agonista TNFR de la proteína inducida por glucocorticoides relacionada a TNFR (GITR); un inhibidor del proteasoma (por ejemplo, aclacinomicina A, gliotoxina o bortezomib); un inmunomodulator tal como talidomida o un derivado de talidomida (por ejemplo, lenalidomida).

[000695] En determinadas modalidades, la terapia o el tratamiento adicional es la terapia celular, por ejemplo, terapia celular adoptiva. En determinadas modalidades, la terapia adicional incluye la administración de células diseñadas, por ejemplo, células adicionales que expresan CAR. En determinadas modalidades, la célula diseñada adicional es una célula que expresa CAR que expresa el mismo receptor recombinante o uno diferente que las células diseñadas proporcionadas en la presente, por ejemplo, células que

expresan CAR anti-GPRC5D. En determinadas modalidades, el receptor recombinante, por ejemplo, CAR, expresado en la célula diseñada adicional, reconoce un antígeno y/o epítopo diferente. En determinadas modalidades, el receptor recombinante, por ejemplo, CAR, expresado en la célula diseñada adicional, reconoce un epítopo diferente del mismo antígeno que los receptores recombinantes descritos en la presente, por ejemplo, GPRC5D. En determinadas modalidades, el receptor recombinante, por ejemplo, CAR, expresado en la célula diseñada adicional, reconoce un antígeno diferente, por ejemplo, un antígeno o combinación de antígenos tumorales diferentes. Por ejemplo, en algunas modalidades, el receptor recombinante, por ejemplo, CAR, expresado en la célula diseñada adicional, está dirigido a células cancerosas que expresan marcadores del linaje tempranos, por ejemplo, células madre cancerosas, mientras otras células que expresan CAR están dirigidas a células cancerosas que expresan marcadores del linaje posteriores. En tales modalidades, la célula diseñada adicional se administra antes de, simultáneamente con, o después de la administración (por ejemplo, infusión) de las células que expresan CAR descritas en la presente. En determinadas modalidades, la célula diseñada adicional expresa un CAR alogénico.

[000696] En determinadas modalidades, las configuraciones de una o más de las moléculas de CAR comprenden un dominio

primario de señalización intracelular y dos o más, por ejemplo, 2, 3, 4, o 5 o más, dominios coestimulatorios de señalización. En determinadas modalidades, una o más de las moléculas de CAR pueden tener el mismo dominio primario de señalización intracelular o uno diferente, el mismo dominio coestimulatorio de señalización o uno diferente, o el mismo número de dominios coestimulatorios de señalización o un número diferente. En determinadas modalidades, una o más de las moléculas de CAR pueden configurarse como CAR dividido, en el cual una de las moléculas de CAR comprende un dominio de unión al antígeno y un dominio coestimulatorio (por ejemplo, 4-1BB), mientras la otra molécula de CAR comprende un dominio de unión al antígeno y un dominio primario de señalización intracelular (por ejemplo, CD3 zeta).

[000697] En determinadas modalidades, el agente adicional es cualquiera de las células diseñadas para expresar una o más moléculas de unión anti-GPRC5D y/o células diseñadas para expresar otras moléculas de unión, por ejemplo, receptores recombinantes, por ejemplo, CAR, que están dirigidos a un antígeno diferente. En determinadas modalidades, el agente adicional incluye cualquiera de las células o la pluralidad de células descritas en la presente, por ejemplo, en la Sección I.C. En determinadas modalidades, el agente adicional es una célula diseñada para expresar un receptor recombinante, por ejemplo, CAR, que está dirigido a un

epítopo y/o antígeno diferente, por ejemplo, un antígeno diferente asociado con una enfermedad o afección. En determinadas modalidades, el agente adicional es una célula diseñada para expresar un receptor recombinante, por ejemplo, CAR, que está dirigido a un segundo antígeno o antígeno adicional expresado en el mieloma múltiple, por ejemplo, CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI y/o FcRH5.

[000698] En determinadas modalidades, el agente adicional es un agente inmunomodulador. En determinadas modalidades, la terapia de combinación incluye un agente inmunomodulador que puede estimular, amplificar, y/o intensificar de cualquier otra manera una respuesta inmunitaria antitumoral, por ejemplo, respuesta inmunitaria antitumoral a partir de las células diseñadas administradas, tal como inhibiendo la señalización inmunosupresora o intensificando la señalización inmunoestimulante. En determinadas modalidades, el agente inmunomodulador es un péptido, proteína o es una molécula pequeña. En determinadas modalidades, la proteína puede ser una proteína de fusión o una proteína recombinante. En determinadas modalidades, el agente inmunomodulador se une a una diana inmunológica, tal como un receptor de la superficie celular expresado en células inmunitarias, tales linfocitos T, linfocitos B o células presentadoras de antígeno. Por ejemplo, en algunas modalidades, el agente inmunomodulador es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de unión al antígeno,

una proteína de fusión, una molécula pequeña o un polipéptido. En determinadas modalidades, los receptores recombinantes, células y/o composiciones se administran en combinación con un agente adicional que es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, tal como un anticuerpo monoclonal.

[000699] En determinadas modalidades, el agente inmunomodulador bloquea, inhibe o contrarresta un componente de la vía de puntos de control inmunitario. El sistema inmunitario tiene varias vías inhibitorias que están involucradas en el mantenimiento de la autotolerancia y para modular respuestas inmunitarias. Los tumores pueden usar ciertas vías de puntos de control inmunitario como mecanismo principal de la resistencia inmunitaria, particularmente contra linfocitos T que son específicos para antígenos tumorales (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264), por ejemplo, células diseñadas tales como células que expresan CAR. Dado que muchos de tales puntos de control inmunitario son iniciados por interacciones ligando-receptor, pueden ser fácilmente bloqueados por anticuerpos contra los ligandos y/o sus receptores.

[000700] Por lo tanto, la terapia con moléculas antagonistas que bloquean una vía de puntos de control inmunitario, tales como moléculas pequeñas, inhibidores de ácidos nucleicos (por ejemplo, ARNi) o moléculas de anticuerpos, se está volviendo

prometedora en la inmunoterapia para el cáncer y otras enfermedades. A diferencia de la mayoría de los agentes contra el cáncer, los inhibidores de puntos de control no necesariamente están dirigidos a células tumorales de manera directa, sino más bien están dirigidos a receptores de linfocitos o sus ligandos para intensificar la actividad antitumoral endógena del sistema inmunitario.

[000701] Como se usa en la presente, el término "inhibidor de puntos de control inmunitario" se refiere a moléculas que reducen, inhiben, interfieren con o modulan totalmente o parcialmente una o más proteínas de puntos de control. Las proteínas de puntos de control regulan la activación o la función de células T. Estas proteínas son responsables de interacciones coestimulatorias o inhibitorias de respuestas de células T. Las proteínas de puntos de control inmunitario regulan y mantienen la autotolerancia y la duración y amplitud de las respuestas inmunitarias fisiológicas. En determinadas modalidades, al sujeto puede administrarse un agente adicional que puede intensificar o reforzar la respuesta inmunitaria, por ejemplo, respuesta inmunitaria efectuada por los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, células y/o composiciones proporcionados en la presente, contra una enfermedad o afección, por ejemplo, un cáncer, tal como cualquiera descrito en la presente.

[000702] Los inhibidores de puntos de control inmunitario incluyen cualquier agente que bloquee o inhiba de una manera estadísticamente significativa las vías inhibitorias del sistema inmunitario. Tales inhibidores pueden incluir inhibidores de molécula pequeña o pueden incluir anticuerpos, o fragmentos de unión al antígeno de estos, que se unen a y bloquean o inhiben receptores de puntos de control inmunitario, ligandos y/o interacciones receptor-ligando. En determinadas modalidades, la modulación, intensificación y/o estimulación de receptores particulares pueden debilitar componentes de la vía de puntos de control inmunitario. Algunas moléculas de puntos de control inmunitario ejemplares a las que puede dirigirse para bloqueo, inhibición, modulación, intensificación y/o estimulación incluyen, entre otras, PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274, B7-H1), PDL2 (CD273, B7-DC), CTLA-4, LAG-3 (CD223), TIM-3, 4-1BB (CD137), 4-1BBL (CD137L), GITR (TNFRSF18, AITR), CD40, OX40 (CD134, TNFRSF4), CXCR2, antígenos asociados a tumores (TAA), B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, B7H3, B7H4, VISTA, KIR, 2B4 (pertenece a la familia CD2 de moléculas y se expresa en todos los linfocitos T NK, γδ, y de memoria CD8+ (αβ)), CD160 (también denominado BY55), CGEN-15049, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 o CD270), KIR, A2aR, CMH clase I, CMH clase II, GAL9, adenosina, y un receptor del

factor de crecimiento transformante (TGFR; por ejemplo, TGFR beta). Los inhibidores de puntos de control inmunitario incluyen anticuerpos, o fragmentos de unión al antígeno de estos, u otras proteínas de unión, que se unen a y bloquean o inhiben y/o intensifican o estimulan la actividad de una o más de cualquiera de dichas moléculas.

[000703] Los inhibidores de puntos de control inmunitario ejemplares incluyen tremelimumab (anticuerpo que bloquea CTLA-4, también conocido ticilimumab, CP-675,206), anti-OX40, anticuerpo monoclonal PD-L1 (anti-B7-H1; MEDI4736), MK-3475 (bloqueador de PD-1), nivolumab (anticuerpo anti-PD-1), CT-011 (anticuerpo anti-PD-1), anticuerpo monoclonal BY55, AMP224 (anticuerpo anti-PD-L1), BMS-936559 (anticuerpo anti-PD-L1), MPLDL3280A (anticuerpo anti-PD-L1), MSB0010718C (anticuerpo anti-PD-L1) e ipilimumab (anticuerpo anti-CTLA-4, también conocido como Yervoy®, MDX-010 y MDX-101). Los anticuerpos inmunomoduladores ejemplares incluyen, entre otros, daclizumab (Zenapax), bevacizumab (Avastin®), basiliximab, ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab, MPDL3280A, pidilizumab (CT-011), MK-3475, BMS-936559, MPDL3280A (atezolizumab), tremelimumab, IMP321, BMS-986016, LAG525, urelumab, PF-05082566, TRX518, MK-4166, dacetuzumab (SGN-40), lucatumumab (HCD122), SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, MSB0010718C (avelumab), MEDI4736, PDR001, rHIgM12B7, ulocuplumab, BKT140, varlilumab

(CDX-1127), ARGX-110, MGA271, lirilumab (BMS-986015, IPH2101), IPH2201, ARGX-115, emactuzumab, CC-90002 y MNRP1685A o un fragmento de unión al anticuerpo de estos. Otros inmunomoduladores ejemplares incluyen, por ejemplo, afutuzumab (disponible de Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimida (CC4047); y IRX-2 (mezcla de citocinas humanas que incluyen interleucina 1, interleucina 2, e interferón gamma, CAS 951209-71-5, disponible de IRX Therapeutics).

[000704] Muerte celular programada 1 (PD-1) es una proteína de punto de control inmunitario que se expresa en linfocitos B, células NK, y linfocitos T (Shinohara et al., 1995, Genomics 23:704-6; Blank et al., 2007, Cancer Immunol Immunother 56:739-45; Finger et al., 1997, Gene 197:177-87; Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). El papel principal de PD-1 es limitar la actividad de linfocitos T en tejidos periféricos durante la inflamación en respuesta a la infección, así como limitar la autoinmunidad. La expresión de PD-1 se induce en linfocitos T activados y la unión de PD-1 a uno de sus ligandos endógenos actúa para inhibir la activación de células T inhibiendo cinasas estimulatorias. PD-1 también actúa para inhibir la "señal de parada" de TCR. PD-1 se expresa extensamente en células Treg y puede aumentar su proliferación en presencia de ligandos (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Se han usado anticuerpos

anti-PD-1 para el tratamiento de melanoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama triple negativo, leucemia, linfoma y cáncer de células renales (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Lipson et al., 2013, Clin Cancer Res 19:462-8; Berger et al., 2008, Clin Cancer Res 14:3044-51; Gildener-Leapman et al., 2013, Oral Oncol 49:1089-96; Menzies y Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85). Algunos anticuerpos anti-PD-1 ejemplares incluyen nivolumab (Opdivo de BMS), pembrolizumab (Keytruda de Merck), pidilizumab (CT-011 de Cure Tech), lambrolizumab (MK-3475 de Merck), y AMP-224 (Merck), nivolumab (también denominado Opdivo, BMS-936558 o MDX1106; Bristol-Myers Squibb) es un anticuerpo monoclonal totalmente humanizado IgG4 que bloquea específicamente PD-1. Nivolumab (clon 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se describen en los documentos US 8,008,449 y WO2006/121168. Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1k que se une a PD-1. Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados se describen en el documento WO2009/101611. Pembrolizumab (conocido anteriomente como lambrolizumab, y también denominado Keytruda, MK03475; Merck) es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG4 que se une a PD-1. Pembrolizumab y otros anticuerpos humanizados anti-PD-1 se describen en los

documentos US 8.354.509 y WO2009/114335. Otros anticuerpos anti-PD-1 incluyen AMP 514 (Amplimmune), entre otros, por ejemplo, anticuerpos anti-PD-1 descritos en los documentos US 8,609,089, US 2010028330, US 20120114649 y/o US 20150210769. AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; por ejemplo, descrito en los documentos WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor soluble de fusión al Fc de PD-L2 que bloquea la interacción entre PD-1 y B7-H1.

[000705] PD-L1 (también conocido como CD274 y B7-H1) y PD-L2 (también conocido como CD273 y B7-DC) son ligandos para PD-1, que se encuentran en linfocitos T activados, linfocitos B, células mieloides, macrófagos, y algunos tipos de células tumorales. Las terapias antitumorales se han enfocado en anticuerpos anti-PD-L1. El complejo de PD-1 y PD-L1 inhibe la proliferación de linfocitos T CD8+ y reduce la respuesta inmunitaria (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65). Algunos anticuerpos anti-PD-L1 se han usado para el tratamiento de cáncer de pulmón de células no pequeñas, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de células renales, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer de mama, y neoplasias hematológicas (Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300-9; Radvanyi et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5541; Menzies y Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85; Berger et al., 2008,

Clin Cancer Res 14:13044-51). Algunos anticuerpos anti-PD-L1 ejemplares incluyen MDX-1105 (Medarex), MEDI4736 (Medimmune) MPDL3280A (Genentech), BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) y MSB0010718C. MEDI4736 (Medimmune) es un anticuerpo monoclonal humano que se une al PD-L1 e inhibe la interacción del ligando con PD-1. MDPL3280A (Genentech/Roche) es un anticuerpo monoclonal optimizado IgG1 del Fc humano que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos contra PD-L1 se describen en la patente de EE. UU. núm. 7.943.743 y en la publicación de EE. UU. núm. 20120039906. Otros agentes de unión anti-PD-L1 incluyen YW243.55.S70 (véase el documento WO2010/077634) y MDX-1105 (también denominado BMS-936559 y, por ejemplo, agentes de unión anti-PD-L1 descritos en el documento WO2007/005874).

[000706] El antígeno asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), también conocido como CD152, es una molécula coinhibitoria que actúa para regular la activación de linfocitos T. CTLA-4 es un miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas que se expresa exclusivamente en linfocitos T. CTLA-4 actúa para inhibir la activación de linfocitos T y se informa que inhibe la actividad de linfocitos T e intensifica la actividad inmunosupresora de linfocitos T reguladores. Aunque el mecanismo preciso de la acción de CTLA-4 permanece en investigación, se ha sugerido que inhibe la activación de linfocitos T superando a CD28 en la unión a

CD80 y CD86, así como proporcionando activamente señales inhibidoras a los linfocitos T (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Se han usado anticuerpos anti-CTLA-4 en ensayos clínicos para el tratamiento de melanoma, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, y cáncer de pulmón de células no pequeñas (Robert y Ghiringhelli, 2009, Oncologist 14:848-61; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300; Weber, 2007, Oncologist 12:864-72; Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89). Una característica significativa de anti-CTLA-4 es la cinética del efecto antitumoral, ya que para la respuesta fisiológica se requiere un período de latencia de hasta 6 meses después del tratamiento inicial. En algunos casos, los tumores pueden realmente aumentar en tamaño después del comienzo del tratamiento, antes de que se observe una reducción (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Algunos anticuerpos anti-CTLA-4 ejemplares incluyen ipilimumab (Bristol-Myers Squibb) y tremelimumab (Pfizer). Ipilimumab ha recibido recientemente la aprobación de la FDA para el tratamiento del melanoma metastásico (Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89).

[000707] El gen 3 de activación linfocitaria (LAG-3), también conocido como CD223, es otra proteína de puntos de control inmunitario. LAG-3 ha sido asociado con la inhibición de la actividad linfocitaria y en algunos casos la inducción de la anergia linfocitaria. LAG-3 se expresa en diversas

células del sistema inmunitario, que incluyen linfocitos B, células NK, y células dendríticas. LAG-3 es un ligando natural para el receptor del CMH clase II, que se expresa sustancialmente en linfocitos T de infiltración en el melanoma, incluidos los dotados de una potente actividad inmunosupresora. Algunos anticuerpos anti-LAG-3 ejemplares incluyen BMS-986016 (Bristol-Myers Squib), que es un anticuerpo monoclonal que está dirigido a LAG-3. IMP701 (Immutep) es un anticuerpo LAG-3 antagonista e IMP731 (Immutep y GlaxoSmithKline) es un anticuerpo LAG-3 de agotamiento. Otros inhibidores LAG-3 incluyen IMP321 (Immutep), que es una proteína de fusión recombinante de una porción soluble de LAG-3 e Ig que se une a moléculas del CMH clase II y activa las células presentadoras de antígeno (APC). Otros anticuerpos se describen, por ejemplo, en los documentos WO2010/019570 y US 2015/0259420.

[000708] El dominio de inmunoglobulina de linfocitos T y el dominio de mucina 3 (TIM-3), identificado inicialmente en linfocitos Th1 activados, ha demostrado ser un regulador negativo de la respuesta inmunitaria. El bloqueo de TIM-3 promueve la inmunidad antitumoral mediada por linfocitos T y tiene actividad antitumoral en una serie de modelos tumorales de ratón. Las combinaciones del bloqueo de TIM-3 con otros agentes inmunoterapéuticos tales como TSR-042, anticuerpos anti-CD137 y otros, pueden ser aditivas o sinérgicas en el

aumento de los efectos antitumorales. La expresión de TIM-3 ha sido asociada con una serie de diferentes tipos tumorales que incluyen melanoma, NSCLC y cáncer renal, y además, la expresión de TIM-3 intratumoral ha demostrado guardar correlación con el mal pronóstico en una variedad de tipos tumorales que incluyen cánceres de NSCLC, cervicouterino, y gástrico. El bloqueo de TIM-3 también es de interés para promover mayor inmunidad a una serie de enfermedades víricas crónicas. TIM-3 también ha demostrado interactuar con una serie de ligandos que incluyen galectina-9, fosfatidilserina y HMGB1, aunque actualmente no está claro cuál de estos, si lo hubiere, es relevante en el control de respuestas antitumorales. En determinadas modalidades, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, moléculas pequeñas, o inhibidores peptídicos que están dirigidos a TIM-3 pueden unirse al dominio IgV de TIM-3 para inhibir la interacción con sus ligandos. Algunos anticuerpos y péptidos ejemplares que inhiben TIM-3 se describen en los documentos US 2015/0218274, WO2013/006490 y US 2010/0247521. Otros anticuerpos anti-TIM-3 incluyen versiones humanizadas de RMT3-23 (Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551), y el clon 8B.2C12 (Monney et al., 2002, Nature, 415:536-541). Algunos anticuerpos biespecíficos que inhiben TIM-3 y PD-1 se describen en el documento US 2013/0156774.

[000709] En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de CEACAM (por ejemplo, inhibidor de CEACAM-1, CEACAM-3, y/o CEACAM-5). En determinadas modalidades, el inhibidor de CEACAM es una molécula anticuerpo anti-CEACAM. Algunos anticuerpos anti-CEACAM-1 ejemplares se describen en los documentos WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 y WO 2014/022332, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal 34B1, 26H7, y 5F4; o una forma recombinante de estos, como se describe en, por ejemplo, los documentos US 2004/0047858, US 7.132.255 y WO 99/052552. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CEACAM se une a CEACAM-5 como se describe en, por ejemplo, Zheng et al. PLoS One. (2011) 6(6): e21146), o experimenta una reacción cruzada con CEACAM-1 y CEACAM-5 como se describe en, por ejemplo, los documentos WO 2013/054331 y US 2014/0271618.

[000710] 4-1BB, también conocido como CD137, es una glucoproteína transmembrana que pertenece a la superfamilia TNFR. Los receptores 4-1BB están presentes en linfocitos T y linfocitos B activados y en monocitos. Un anticuerpo anti-4-1BB ejemplar es urelumab (BMS-663513), que tiene potencial inmunoestimulatorio y actividades antineoplásicas.

[000711] El miembro 4 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFRSF4), también conocido como OX40 y CD134, es otro miembro de la superfamilia TNFR. OX40 no se expresa constitutivamente en linfocitos T vírgenes en

reposo y actúa como molécula secundaria coestimulatoria de puntos de control inmunitario. Algunos anticuerpos anti-OX40 ejemplares son MEDI6469 y MOXR0916 (RG7888, Genentech).

[000712] En determinadas modalidades, el agente adicional incluye una molécula que disminuye la población de linfocitos T reguladores (Treg). Algunos métodos que disminuyen el número de (por ejemplo, agotan) las células Treg son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, agotamiento de CD25, administración de ciclofosfamida, y modulación de la función del gen relacionado con la familia TNFR inducido por glucocorticoides (GITR). GITR es un miembro de la superfamilia TNFR que es regulado por aumento en linfocitos T activados, lo cual potencia el sistema inmunitario. Al reducir el número de células Treg en un sujeto antes de la aféresis o antes de la administración de células diseñadas, por ejemplo, células que expresan CAR, puede reducirse el número de células inmunitarias no deseadas (por ejemplo, Treg) en el microentorno tumoral y se reduce el riesgo de recaída del sujeto. En determinadas modalidades, el agente adicional incluye una molécula que está dirigida a GITR y/o modula funciones de GITR, tal como un agonista de GITR y/o un anticuerpo GITR que agota los linfocitos T reguladores (Treg). En determinadas modalidades, el agente adicional incluye ciclofosfamida. En determinadas modalidades, la molécula de unión a GITR y/o la molécula que modula la

función de GITR (por ejemplo, agonista de GITR y/o anticuerpos de GITR que agotan las Treg) se administra antes de las células diseñadas, por ejemplo, células que expresan CAR. Por ejemplo, en algunas modalidades, el agonista de GITR puede administrarse antes de la aféresis de las células. En determinadas modalidades, la ciclofosfamida se administra al sujeto antes de la administración (por ejemplo, infusión o reinfusión) de las células diseñadas, por ejemplo, células que expresan CAR, o antes de la aféresis de las células. En determinadas modalidades, la ciclofosfamida y un anticuerpo anti-GITR se administran al sujeto antes de la administración (por ejemplo, infusión o reinfusión) de las células diseñadas, por ejemplo, células que expresan CAR, o antes de la aféresis de las células.

[000713] En determinadas modalidades, el agente adicional es un agonista de GITR. Algunos agonistas de GITR ejemplares incluyen, por ejemplo, proteínas de fusión a GITR y anticuerpos anti-GITR (por ejemplo, anticuerpos bivalentes anti-GITR) tales como, por ejemplo, una proteína de fusión a GITR descrita en la patente de EE. UU. núm. 6,111,090, patente europea núm. 090505B 1, patente de EE. UU. núm. 8,586,023, publicaciones del PCT núms.: WO 2010/003118 y 2011/090754, o un anticuerpo anti-GITR descrito, por ejemplo, en la patente de EE. UU. núm. 7,025,962, patente europea núm. 1947183B 1, patente de EE. UU. núm. 7,812,135, patente de EE.

UU. núm. 8,388,967, patente de EE. UU. núm. 8,591,886, patente europea núm. EP 1866339, publicación de patente del PCT núm. WO 2011/028683, publicación de patente del PCT núm. WO 2013/039954, publicación de patente del PCT núm. WO2005/007190, publicación de patente del PCT núm. WO 2007/133822, publicación de patente del PCT núm. WO2005/055808, publicación de patente del PCT núm. WO 99/40196, publicación de patente del PCT núm. WO 2001/03720, publicación de patente del PCT núm. WO99/20758, publicación de patente del PCT núm. WO2006/083289, publicación de patente del PCT núm. WO 2005/115451, patente de EE. UU. núm. 7,618,632, y publicación de patente del PCT núm. WO 2011/051726. Un anticuerpo anti-GITR ejemplar es TRX518.

[000714] En determinadas modalidades, el agente adicional intensifica la infiltración tumoral o la transmigración de las células administradas, por ejemplo, células que expresan CAR. Por ej., en algunas modalidades, el agente adicional estimula CD40, tal como CD40L, por ejemplo, CD40L humano recombinante. Los grupos de diferenciación 40 (CD40) también son miembros de la superfamilia TNFR. CD40 es una proteína coestimulatoria que se encuentra en células presentadoras de antígeno y media una amplia variedad de respuestas inmunitarias e inflamatorias. CD40 también se expresa en algunas neoplasias, donde promueve la proliferación. Algunos anticuerpos anti-CD40 ejemplares son dacetuzumab (SGN-40),

lucatumumab (Novartis, antagonista), SEA-CD40 (Seattle Genetics), y CP-870,893. En determinadas modalidades, el agente adicional que intensifica la infiltración tumoral incluye el inhibidor de tirosina cinasa sunitnib, heparanasa, y/o receptores de quimiocinas tales como CCR2, CCR4 y CCR7.

[000715] En determinadas modalidades, el agente adicional incluye fármacos de talidomida o análogos de esta y/o derivados de esta, tales como lenalidomida, pomalidomida o apremilast. Véase, por ejemplo, Bertilaccio et al., Blood (2013) 122:4171, Otahal et al., Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940; Fecteau et al., Blood (2014) 124(10):1637-1644 y Kuramitsu et al., Cancer Gene Therapy (2015) 22:487-495). La lenalidomida ((RS)-3-(4-amino-1-oxo-1.3-dihidro-2H-isoindol-2-il) piperidin-2,6-diona; también conocido como Revlimid) es un derivado sintético de talidomida y tiene varios efectos inmunomoduladores, que incluyen el forzamiento de la formación de sinapsis inmunitarias entre linfocitos T y células presentadoras de antígeno (APC). Por ejemplo, en algunos casos, la lenalidomida modula las respuestas de linfocitos T y da lugar a un aumento de la producción de interleucina (IL)-2 en linfocitos T CD4+ y CD8+, induce el cambio de respuestas de células Th de Th2 a Th1, inhibe la expansión del subconjunto regulador de linfocitos T (Treg), y mejora el funcionamiento de las sinapsis inmunológicas en el linfoma folicular y la leucemia linfocítica crónica (CLL)

(Otahal et al., Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940). La lenalidomida también tiene actividad tumoricida directa en pacientes con mieloma múltiple (MM) y modula directamente e indirectamente la supervivencia de linfocitos tumorales de la CLL afectando a células de apoyo, tales como células nodrizas que se encuentran en el microambiente de tejidos linfoides. La lenalidomida también puede intensificar la proliferación de linfocitos T y la producción de interferón-γ en respuesta a la activación de linfocitos T por medio de la ligación de CD3 o la activación mediada por células dendríticas. La lenalidomida también puede inducir a linfocitos B malignos a expresar mayores niveles de moléculas inmunoestimulatorias tales como CD80, CD86, HLA-DR, CD95, y CD40 (Fecteau et al., Blood (2014) 124(10):1637-1644). En determinadas modalidades, la lenalidomida se administra en una dosificación de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg diarios, por ejemplo, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 7,5 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 15 mg, tal como aproximadamente 5 mg, 10 mg, 15 mg o 20 mg diarios. En determinadas modalidades, la lenalidomida se administra en una dosis de aproximadamente 10 µg/kg a 5 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 100 µg/kg a aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 200 µg/kg a aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 400 µg/kg a aproximadamente 600 µg/kg, tal

como aproximadamente 500 µg/kg. En determinadas modalidades, el rituximab se administra en una dosificación de aproximadamente 350-550 mg/m2 (por ejemplo, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475, o 475-500 mg/m2), por ejemplo, por vía intravenosa. En determinadas modalidades, la lenalidomida se administra a una dosis baja.

[000716] En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de linfocitos B. En determinadas modalidades, el agente adicional es uno o más inhibidores de linfocitos B seleccionados de entre inhibidores de CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3, o ROR1, o una combinación de estos. En determinadas modalidades, el inhibidor de linfocitos B es un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo mono o biespecífico) o un fragmento de unión al antígeno de este. En determinadas modalidades, el agente adicional es una célula diseñada que expresa receptores recombinantes que están dirigidos a dianas de linfocitos B, por ejemplo, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3, o ROR1.

[000717] En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de CD20, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD20 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD20 mono o biespecífico) o un fragmento de este. Algunos anticuerpos anti-CD20 ejemplares incluyen, entre otros, rituximab, ofatumumab, ocrelizumab (también conocido como GA101 o RO5072759),

veltuzumab, obinutuzumab, TRU-015 (Trubion Pharmaceuticals), ocaratuzumab (también conocido como AME-133v o ocaratuzumab), y Pro131921 (Genentech). Véase, por ejemplo, Lim et al. Haematologica. (2010) 95(1):135-43. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD20 comprende rituximab. Rituximab es un anticuerpo monoclonal IgG1 kappa quimérico de ratón/humano que se une a CD20 y causa la citólisis de una célula que expresa CD20. En determinadas modalidades, el agente adicional incluye rituximab. En determinadas modalidades, el inhibidor de CD20 es una molécula pequeña.

[000718] En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de CD22, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD22 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD22 mono o biespecífico) o un fragmento de este. Algunos anticuerpos anti-CD22 ejemplares incluyen epratuzumab y RFB4. En determinadas modalidades, el inhibidor de CD22 es una molécula pequeña. En determinadas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoespecífico, opcionalmente conjugado a un segundo agente tal como un agente quimioterapéutico. por ejemplo, en algunas modalidades, el anticuerpo es un conjugado anticuerpo monoclonal anti-CD22-MMAE (por ejemplo, DCDT2980S). En determinadas modalidades, el anticuerpo es un scFv de un anticuerpo anti-CD22, por ejemplo, un scFv del anticuerpo RFB4. En determinadas modalidades, el scFv está fusionado a la totalidad o a un fragmento de la exotoxina-A de

Pseudomonas (por ejemplo, BL22). En determinadas modalidades, el scFv está fusionado a la totalidad o a un fragmento (por ejemplo, un fragmento de 38 kDa) de la exotoxina-A de Pseudomonas (por ejemplo, moxetumomab pasudotox). En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD22 es un anticuerpo biespecífico anti-CD19/CD22, opcionalmente conjugado a una toxina. P. ej., en algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD22 comprende una porción biespecífica anti-CD19/CD22, (por ejemplo, dos ligandos scFv, que reconocen CD19 y CD22 humanos) opcionalmente unidos a la totalidad o a una porción de la toxina de la difteria (DT), por ejemplo, primeros 389 aminoácidos de la toxina de la difteria (DT), DT 390, por ejemplo, una toxina dirigida por ligandos tal como DT2219ARL). En determinadas modalidades, la porción biespecífica (por ejemplo, anti-CD 19/anti-CD22) está unida a una toxina tal como la cadena A de la ricina deglicosilada (por ejemplo, Combotox).

[000719] En determinadas modalidades, el agente inmunomodulador es una citocina. En determinadas modalidades, el agente inmunomodulador es una citocina o es un agente que induce un aumento de la expresión de una citocina en el microentorno tumoral. Las citoquinas tienen funciones importantes relacionadas a expansión, diferenciación, supervivencia, y homeostasia de linfocitos T. Las citoquinas que pueden administrarse al sujeto que recibe los receptores

recombinantes de unión a GPRC5D, células y/o composiciones proporcionados en la presente incluyen una o más de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18, e IL-21. Las citoquinas que pueden administrarse al sujeto que recibe los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, receptores recombinantes de unión a BCMA, y receptores recombinantes de unión a GPRC5D y BCMA, células y/o composiciones proporcionados en la presente incluyen una o más de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18, e IL-21. En determinadas modalidades, la citocina administrada es IL-7, IL-15, o IL-21 o una combinación de estas. En determinadas modalidades, la administración de la citocina a puede mejorar ciertos aspectos tales como respuesta o actividad antitumoral de las células administradas, por ejemplo, células que expresan CAR.

[000720] Citoquina puede referirse a proteínas liberadas por una población celular que actúan en otra célula como mediadores intercelulares. Algunos ejemplos de tales citoquinas son linfoquinas, monoquinas, y hormonas polipeptídicas tradicionales. Entre las citoquinas se incluyen hormonas de crecimiento tales como hormona de crecimiento humano, N-metionil hormona de crecimiento humano, y hormona de crecimiento bovino; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorelaxina; glucoproteín hormonas tales como hormona foliculoestimulante (FSH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y hormona

luteinizante (LH); factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos; prolactina; lactógeno placentario; factor alfa y beta de necrosis tumoral; sustancia inhibidora mulleriana; péptido asociado a la gonadotropina de ratón; inhibina; activina; factor de crecimiento endotelial vascular; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento nervioso tales como NGF-beta; factor de crecimiento de plaquetas; factores de crecimiento transformante (TGF) tales como TGF-alfa y TGF-beta; factor de crecimiento insulínico I y II; eritropoyetina (EPO); factores osteoinductivos; interferones tales como interferón alfa, beta, y gamma; factores estimulantes de colonias (CSF) tales como macrófago-CSF (M-CSF); granulocito-macrófago-CSF (GM-CSF); y granulocito-CSF (G-CSF); interleucinas (IL) 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 que incluyen LIF y ligando kit (KL). Como se usa en la presente, el término citocina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivo de células recombinantes, y equivalentes biológicamente activos de las citoquinas de secuencia nativa. Por ejemplo, el agente inmunomodulador es una citocina y la citocina es IL-4, TNF-α, GM-CSF o IL-2.

[000721] En determinadas modalidades, el agente adicional incluye un polipéptido de interleucina-15 (IL-15), un

polipéptido del receptor alfa de interleucina-15 (IL-15Rα), o combinación de estos, por ejemplo, hetIL-15 (Admune Therapeutics, LLC). hetIL-15 es un complejo heterodimérico no covalente de IL-15 e IL-15Rα. hetIL-15 se describe en, por ejemplo, los documentos U.S. 8,124,084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413, y U.S. 2011/0081311. En determinadas modalidades, el agente inmunomodulador puede contener una o más citoquinas. Por ejemplo, la interleucina puede incluir inyección de interleucina leucocitaria (Multikine), que es una combinación de citoquinas naturales. En determinadas modalidades, el agente inmunomodulador es un agonista del receptor tipo Toll (TLR), un adyuvante, o una citocina.

[000722] En determinadas modalidades, el agente adicional es un agente que mejora o neutraliza una o más toxicidades o efectos secundarios asociados con la terapia celular. En determinadas modalidades, el agente adicional se selecciona de entre un esteroide (por ejemplo, corticoesteroide), un inhibidor de TNFα, y un inhibidor de IL-6. Un ejemplo de un inhibidor de TNFα es una molécula de anticuerpo anti-TNFα tal como infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, y golimumab. Otro ejemplo de un inhibidor de TNFα es una proteína de fusión tal como entanercept. Algunos inhibidores de molécula pequeña de TNFα incluyen, entre otros, derivados de xantina (por ejemplo, pentoxifilina) y bupropión. Un ejemplo de un

inhibidor de IL-6 es una molécula de anticuerpo anti-IL-6 tal como tocilizumab, sarilumab, elsilimomab, CNTO 328, ALD518/BMS-945429, CNTO 136, CPSI-2364, CDP6038, VX30, ARGX-109, FE301, y FM101. En determinadas modalidades, la molécula de anticuerpo anti-IL-6 es tocilizumab. En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de IL-1R, tal como anakinra.

[000723] En determinadas modalidades, el agente adicional es un modulador de los niveles de adenosina y/o un componente de la vía de adenosina. La adenosina puede funcionar como agente inmunomodulador en el cuerpo. Por ejemplo, la adenosina y algunos análogos de adenosina que activan de manera no selectiva los subtipos de receptores de adenosina disminuyen la producción de neutrófilos de productos oxidativos inflamatorios (Cronstein et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 451:291, 1985; Roberts et al., Biochem. J., 227:669, 1985; Schrier et al., J. Immunol. 137:3284, 1986; Cronstein et al., Clinical Immunol. Immunopath. 42:76, 1987). En algunos casos, la concentración de adenosina, o análogos de adenosina, extracelular puede aumentar en entornos específicos, por ejemplo, el microentorno tumoral (TME). En algunos casos, la señalización de adenosina o análogos de adenosina depende de la hipoxia o de factores involucrados en la hipoxia o su regulación, por ejemplo, factor inducible de hipoxia (HIF). En determinadas modalidades, el aumento en la señalización de

adenosina puede aumentar en proteincinasas dependientes de AMPc y AMPc intracelular, lo que da lugar a la inhibición de la producción de citoquinas proinflamatorias, y puede llevar a la síntesis de moléculas inmunosupresoras y al desarrollo de Treg (Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605). En determinadas modalidades, el agente adicional puede reducir o revertir los efectos inmunosupresores de la adenosina, análogos de adenosina y/o señalización de adenosina. En determinadas modalidades, el agente adicional puede reducir o revertir la inmunosupresión de linfocitos T A2-adenosinérgica impulsada por hipoxia. En determinadas modalidades, el agente adicional se selecciona de entre antagonistas de receptores de adenosina, agentes extracelulares que degradan la adenosina, inhibidores de generación de adenosina por ectoenzimas CD39/CD73, e inhibidores de la señalización hipoxia-HIF-1α. En determinadas modalidades, el agente adicional es un antagonista o agonista del receptor de adenosina.

[000724] La inhibición o reducción de adenosina extracelular o del receptor de adenosina debida a un inhibidor de adenosina extracelular (tal como un agente que previene la formación de, degrada, transforma en inactiva, y/o disminuye la adenosina extracelular), y/o un inhibidor del receptor de adenosina (tal como un antagonista del receptor de adenosina) puede intensificar la respuesta inmunitaria, tal como una

respuesta mediada por macrófagos, neutrófilos, granulocitos, células dendríticas, linfocitos T y/o B. Además, los inhibidores de la vía intracelular dependiente de AMPc mediada por proteínas Gs y los inhibidores de vías intracelulares mediadas por proteínas Gi desencadenadas por el receptor de adenosina también pueden aumentar la inflamación aguda y crónica.

[000725] En determinadas modalidades, el agente adicional es un antagonista o agonista del receptor de adenosina, por ejemplo, un antagonista o agonista de uno o más de los receptores de adenosina A2a, A2b, A1, y A3. A1 y A3 inhiben, y A2a y A2b estimulan, respectivamente, la actividad de la adenilato ciclasa. Ciertos receptores de adenosina, tales como A2a, A2b, y A3, pueden suprimir o reducir la respuesta inmunitaria durante la inflamación. Por lo tanto, al antagonizar receptores de adenosina inmunosupresores se puede aumentar, reforzar o intensificar la respuesta inmunitaria, por ejemplo, la respuesta inmunitaria a partir de células administradas, por ejemplo, linfocitos T que expresan CAR. En determinadas modalidades, el agente adicional inhibe la producción de adenosina extracelular y la señalización desencadenada por adenosina a través de receptores de adenosina. Por ejemplo, la intensificación de una respuesta inmunitaria, la inflamación del tejido local, y la destrucción focalizada del tejido puede intensificarse

inhibiendo o reduciendo la hipoxia del tejido local que produce adenosina; degradando (o transformando en inactiva) la adenosina extracelular acumulada; impidiendo o disminuyendo la expresión de receptores de adenosina en células inmunitarias; y/o inhibiendo/antagonizando la señalización por ligandos de adenosina a través de receptores de adenosina.

[000726] Un antagonista es cualquier sustancia que tiende a anular la acción de otra, como un agente que se une a un receptor celular sin desencadenar una respuesta biológica. En determinadas modalidades, el antagonista es un compuesto químico que es un antagonista para un receptor de adenosina, tal como el receptor A2a, A2b, o A3. En determinadas modalidades, el antagonista es un péptido o un peptidomimético, que se une al receptor de adenosina, pero no desencadena una vía intracelular dependiente de proteínas Gi. Algunos antagonistas ejemplares se describen en las patentes de EE. UU. No. 5,565,566; 5,545, 627, 5,981,524; 5,861,405; 6,066,642; 6,326,390; 5,670,501; 6,117,998; 6,232,297; 5,786,360; 5,424,297; 6,313,131, 5,504,090; y 6,322,771.

[000727] En determinadas modalidades, el agente adicional es un antagonista del receptor A2 (A2R), tal como un antagonista de A2a. Algunos antagonistas de A2R ejemplares incluyen KW6002 (istradefilina), SCH58261, cafeína, paraxantina, 3,7-dimetil-1-propargilxantina (DMPX), 8-(m-cloroestiril) cafeína

(CSC), MSX-2, MSX-3, MSX-4, CGS-15943, ZM-241385, SCH-442416, preladenant, vipadenant (BII014), V2006, S. 1535, SYN-115, PSB-1115, ZM241365, FSPTP, y un ácido nucleico inhibitorio que está dirigido a la expresión de A2R, por ejemplo, ARNip o ARNhc, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que está dirigido a un A2R. En determinadas modalidades, el agente adicional es un antagonista de A2R descrito en, por ejemplo, Ohta et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137; Jin et al., Cancer Res. (2010) 70(6):2245-2255; Leone et al., Computational y Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272; Beavis et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2013) 110:14711–14716; y Pinna, A., Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631; Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605; documentos US 8,080,554; US 8,716,301; US 20140056922; WO2008/147482; US 8,883,500; US 20140377240; WO02/055083; US 7,141,575; US 7,405,219; US 8,883,500; US 8,450,329 y US 8,987,279).

[000728] En determinadas modalidades, el antagonista es una molécula antisentido, molécula de ácido nucleico inhibitorio (por ejemplo, ARN pequeño inhibitorio (ARNip)) o molécula de ácido nucleico catalítico (por ejemplo, una ribozima) que se une específicamente al ARNm que codifica un receptor de adenosina. En determinadas modalidades, la molécula antisentido, la molécula de ácido nucleico inhibitorio o la molécula de ácido nucleico catalítico se une a ácidos

nucleicos que codifican A2a, A2b, o A3. En determinadas modalidades, una molécula antisentido, la molécula de ácido nucleico inhibitorio o la molécula de ácido nucleico catalítico está dirigida a vías bioquímicas aguas abajo del receptor de adenosina. Por ejemplo, la molécula antisentido o el ácido nucleico catalítico pueden inhibir una enzima involucrada en la vía intracelular dependiente de proteínas Gs o proteínas Gi. En determinadas modalidades, el agente adicional incluye la forma mutante negativa dominante de un receptor de adenosina, tal como A2a, A2b, o A3.

[000729] En determinadas modalidades, el agente adicional que inhibe la adenosina extracelular incluye agentes que transforman la adenosina extracelular en no funcional (o disminuyen tal función), tal como una sustancia que modifica la estructura de adenosina para inhibir la capacidad de la adenosina de señalizar a través de receptores de adenosina. En determinadas modalidades, el agente adicional es una enzima extracelular que genera adenosina o degrada adenosina, una forma modificada de esta o un modulador de esta. P. ej., en algunas modalidades, el agente adicional es una enzima (por ejemplo, adenosina desaminasa) u otra molécula catalítica que se une selectivamente y destruye la adenosina, de esta manera aboliendo o disminuyendo significativamente la capacidad de la adenosina de formación endógena de señalizar

a través de receptores de adenosina y terminar la inflamación.

[000730] En determinadas modalidades, el agente adicional es una adenosina desaminasa (ADA) o una forma modificada de esta, por ejemplo, ADA recombinante y/o ADA modificada con polietilenglicol (ADA-PEG), que puede inhibir la acumulación en el tejido local de adenosina extracelular. ADA-PEG se ha usado en el tratamiento de pacientes con ADA SCID (Hershfield (1995) Hum Mutat. 5:107). En determinadas modalidades, un agente que inhibe la adenosina extracelular incluye agentes que previenen o disminuyen la formación de adenosina extracelular, y/o previenen o disminuyen la acumulación de adenosina extracelular, de esta manera suprimiendo, o disminuyendo sustancialmente, los efectos inmunosupresores de la adenosina. En determinadas modalidades, el agente adicional inhibe específicamente enzimas y proteínas que están involucradas en la regulación de la síntesis y/o secreción de moléculas proinflamatorias, incluidos los moduladores de factores de transcripción nuclear. La supresión de la expresión de receptores de adenosina o expresión de la vía intracelular dependiente de proteínas Gs o proteínas Gi, o la vía intracelular dependiente de AMPc, puede dar lugar a un aumento/intensificación de la respuesta inmunitaria.

[000731] En determinadas modalidades, el agente adicional puede estar dirigido a ectoenzimas que generan o producen adenosina extracelular. En determinadas modalidades, el agente adicional está dirigido a las ectoenzimas CD39 y CD73, que actúan en tándem para generar adenosina extracelular. La CD39 (también denominada ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa) convierte el ATP (o ADP) extracelular a AMP 5′. Posteriormente, la CD73 (también denominada 5′-nucleotidasa) convierte el AMP 5′ a adenosina. La actividad de CD39 es reversible por las acciones de NDP cinasa y adenilato cinasa, mientras que la actividad de CD73 es irreversible. CD39 y CD73 se expresan en células estromales tumorales, que incluyen células endoteliales y Treg, y también en muchas células cancerosas. Por ejemplo, la expresión de CD39 y CD73 en células endoteliales se aumenta en las condiciones hipóxicas del microentorno tumoral. La hipoxia tumoral puede resultar del suministro inadecuado de sangre y de la vasculatura desorganizada del tumor, perjudicando el suministro de oxígeno (Carroll y Ashcroft (2005), Expert. Rev. Mol. Med. 7(6):1-16). La hipoxia también inhibe la adenilato cinasa (AK), que convierte la adenosina a AMP, llevando a una muy alta concentración de adenosina extracelular. Por lo tanto, la adenosina se libera a altas concentraciones en respuesta a la hipoxia, que es una condición que aparece frecuentemente en el microentorno

tumoral (TME), en o alrededor de tumores sólidos. En determinadas modalidades, el agente adicional es uno o más de anticuerpo anti-CD39 o fragmento de unión al antígeno de este, anticuerpo anti-CD73 o fragmento de unión al antígeno de este, por ejemplo, MEDI9447 o TY/23, α-β-metilen-adenosina difosfato (ADP), ARL 67156, POM-3, IPH52 (véase, por ejemplo, Allard et al. Clin Cancer Res (2013) 19(20):5626-5635; Hausler et al., Am J Transl Res (2014) 6(2):129-139; Zhang, B., Cancer Res. (2010) 70(16):6407-6411).

[000732] En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de la señalización del factor 1 alfa (HIF-1α) inducible por hipoxia. Los inhibidores de ejemplo de HIF-1α incluyen digoxina, acriflavina, sirtuina-7 y ganetespib.

[000733] En determinadas modalidades, el agente adicional incluye un inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa, por ejemplo, un inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa descrito en la presente. En determinadas modalidades, el inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa es un inhibidor de SHP-1, por ejemplo, un inhibidor de SHP-1 descrito en la presente, tal como, por ejemplo, estibogluconato sódico. En determinadas modalidades, el inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa es un inhibidor de SHP-2, por ejemplo, un inhibidor de SHP-2 descrito en la presente.

[000734] En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de cinasas. Los inhibidores de cinasas, tales

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

[000735] En determinadas modalidades, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de BTK seleccionado de ibrutinib (PCI- 32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; y LFM-A13. En determinadas modalidades, el inhibidor de BTK no reduce o no inhibe la actividad cinasa de la cinasa inducible por interleucina-2 (ITK), y se selecciona de GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; y LFM-A13.

[000736] En determinadas modalidades, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de BTK, por ejemplo, ibrutinib (1-[(3R)-3-[4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-ona; también conocido como PCI-32765). En determinadas modalidades, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de BTK, por ejemplo, ibrutinib (PCI-32765), y el ibrutinib se administra en una dosis de aproximadamente 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 560 mg, 580 mg, 600 mg (por ejemplo, 250 mg, 420 mg o 560 mg) diariamente durante un periodo de tiempo, por ejemplo, diariamente durante un ciclo de 21 días, o diariamente durante un ciclo de 28 días. En determinadas modalidades, se administran 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más ciclos de ibrutinib. En determinadas modalidades, el inhibidor de BTK es un inhibidor de BTK descrito en la solicitud internacional WO 2015/079417.

[000737] En determinadas modalidades, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de PI3K. PI3K es clave para la vía PI3K/Akt/mTOR involucrada en la regulación del ciclo celular y la supervivencia de linfomas. Un inhibidor de PI3K ejemplar incluye idelalisib (inhibidor de PI3Kδ). En determinadas modalidades, el agente adicional es idelalisib y rituximab.

[000738] En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de la diana mamífera de rapamicina (mTOR). En determinadas modalidades, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de mTOR seleccionado de temsirolimus; ridaforolimus (también conocido como AP23573 y MK8669); everolimus (RAD001); rapamicina (AY22989); simapimod; AZD8055; PF04691502; SF1126; y XL765. En determinadas modalidades, el agente adicional es un inhibidor de proteincinasa activada por mitógenos (MAPK), tal como vemurafenib, dabrafenib, y trametinib.

[000739] En determinadas modalidades, el agente adicional es un agente que regula proteínas pro o antiapoptóticas. En determinadas modalidades, el agente adicional incluye un inhibidor de linfoma 2 de linfocitos B (BCL-2) (por ejemplo, venetoclax, también denominado ABT-199 o GDC-0199; o ABT-737). Venetoclax es una molécula pequeña (4-(4-{[2-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-1-ciclohexen-1-il]metil}-1-piperazinil)-N-({3-nitro-4-[(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)amino]fenil}sulfonil)-2-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-5-

iloxi)benzamida) que inhibe la proteína antiapoptótica, BCL-2. Otros agentes que modulan proteínas pro o antiapoptóticas incluyen el inhibidor de BCL-2 ABT-737, navitoclax (ABT-263); ARNip de Mcl-1 o inhibidor retinoide de Mcl-1 N-(4-hidroxifenil)retinamida (4-HPR) para una eficacia máxima. En determinadas modalidades, el agente adicional proporciona un estímulo proapoptótico, tal como el ligando recombinante del factor de necrosis tumoral relacionado con la inducción de la apoptosis (TRAIL), que puede activar la vía de la apoptosis uniéndose a los receptores de muerte TRAIL DR 4 y DR 5 en la superficie de las células tumorales, o anticuerpos agonísticos TRAIL-R2.

[000740] En determinadas modalidades, el agente adicional incluye un inhibidor de indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO). La IDO es una enzima que cataliza la degradación del aminoácido L-triptófano a quinurenina. Muchos cánceres sobreexpresan la IDO, por ejemplo, cáncer prostático, colorrectal, pancreático, cervicouterino, gástrico, ovárico, de cabeza, y de pulmón. Las células dendríticas plasmacitoides (pDC), los macrófagos, y las células dendríticas (DC) pueden expresar la IDO. En algunos aspectos, una disminución en L-triptófano (por ejemplo, catalizada por IDO) da lugar a un entorno inmunosupresor al inducir la anergia y la apoptosis de los linfocitos T. Por lo tanto, en algunos aspectos, un inhibidor de IDO puede intensificar la eficacia de los receptores

recombinantes de unión a GPRC5D, células y/o composiciones descritos en la presente, por ejemplo, disminuyendo la supresión o la muerte de las células que expresan CAR administradas. Algunos inhibidores de IDO ejemplares incluyen, entre otros, 1-metil-triptófano, indoximod (New Link Genetics) (véase, por ejemplo, núms. identificadores de Clinical Trials NCT01191216; NCT01792050), y INCB024360 (Incyte Corp.) (véase, por ejemplo, núms. identificadores de Clinical Trials NCT01604889; NCT01685255).

[000741] En determinadas modalidades, el agente adicional incluye un agente citotóxico, por ejemplo, CPX-351 (Celator Pharmaceuticals), citarabina, daunorubicina, vosaroxina (Sunesis Pharmaceuticals), sapacitabina (Cyclacel Pharmaceuticals), idarubicina, o mitoxantrona. En determinadas modalidades, el agente adicional incluye un agente hipometilante, por ejemplo, un inhibidor de ADN metiltransferasa, por ejemplo, azacitidina o decitabina.

[000742] En otra modalidad, la terapia adicional es el trasplante, por ejemplo, un trasplante de células madre alogénicas.

[000743] En determinadas modalidades, la terapia adicional es una terapia de agotamiento linfático. Se cree que la quimioterapia de agotamiento linfático mejora el prendimiento y la actividad de células que expresan el receptor recombinante, tales como linfocitos CAR-T. En determinadas

modalidades, la quimioterapia de agotamiento linfático puede estimular a linfocitos T específicos para el tumor transferidos de manera adoptiva para que proliferen in vivo a través de la proliferación homeostática (Grossman 2004, Stachel 2004). En determinadas modalidades, la quimioterapia puede reducir o eliminar los linfocitos T reguladores CD4+CD25+, que pueden suprimir la función de linfocitos T transferidos de manera adoptiva dirigidos al tumor (Turk 2004). En determinadas modalidades, la quimioterapia de agotamiento linfático antes de la terapia de linfocitos T adoptivos puede intensificar la expresión del factor 1 derivado de células estromales (SDF-1) en la médula ósea, intensificando el anidamiento de linfocitos T modificados al sitio del tumor primario a través de la unión de SDF-1 con CXCR-4 expresado en la superficie de los linfocitos T (Pinthus 2004). En determinadas modalidades, la quimioterapia de agotamiento linfático puede seguir reduciendo la carga tumoral del sujeto y posiblemente bajar el riesgo y la gravedad del CRS.

[000744] En determinadas modalidades, el agotamiento linfático se realiza en un sujeto, por ejemplo, antes de la administración de células diseñadas, por ejemplo, células que expresan CAR. En determinadas modalidades, el agotamiento linfático comprende la administración de uno o más de melfalano, citoxano, ciclofosfamida, y/o fludarabina. En

determinadas modalidades, una quimioterapia de agotamiento linfático se administra al sujeto antes de, simultáneamente con, o después de la administración (por ejemplo, infusión) de células diseñadas, por ejemplo, células que expresan CAR. En un ejemplo, la quimioterapia de agotamiento linfático se administra al sujeto antes de la administración de células diseñadas, por ejemplo, células que expresan CAR. En determinadas modalidades la quimioterapia de agotamiento linfático se administra 1 a 10 días antes de la administración de células diseñadas, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 días antes del comienzo de la administración de células diseñadas, o al menos 2 días antes, tal como al menos 3, 4, 5, 6, o 7 días antes, del comienzo de la administración de células diseñadas. En determinadas modalidades, al sujeto se administra un agente de preacondicionamiento no más de 7 días antes, tal como no más de 6, 5, 4, 3, o 2 días antes, del comienzo de la administración de células diseñadas. El número de días después de la quimioterapia de agotamiento linfático en que se administran las células diseñadas puede determinarse según las circunstancias clínicas o logísticas. En algunos ejemplos, pueden implementarse ajustes de la dosis u otros cambios al régimen de quimioterapia de agotamiento linfático debido a la salud de un sujeto, tal como la actividad

subyacente de los órganos del sujeto, determinada por el médico tratante.

[000745] En determinadas modalidades, la quimioterapia de agotamiento linfático comprende la administración de un agente de agotamiento linfático, tal como ciclofosfamida, fludarabina, o combinaciones de estos. En determinadas modalidades, al sujeto se administra ciclofosfamida en una dosis entre o entre aproximadamente 20 mg/kg y 100 mg/kg de peso corporal del sujeto, tal como entre o entre aproximadamente 40 mg/kg y 80 mg/kg. En algunos aspectos, al sujeto se administra aproximadamente 60 mg/kg de ciclofosfamida. En determinadas modalidades, la ciclofosfamida se administra una vez por día durante uno o dos días. En determinadas modalidades, donde el agente de agotamiento linfático comprende ciclofosfamida, al sujeto se administra ciclofosfamida en una dosis entre o entre aproximadamente 100 mg/m^2 y 500 mg/m^2 de área de superficie corporal del sujeto, tal como entre o entre aproximadamente 200 mg/m^2 y 400 mg/m^2, o 250 mg/m^2 y 350 mg/m^2, inclusive. En algunos casos, al sujeto se administra aproximadamente 300 mg/m^2 de ciclofosfamida. En determinadas modalidades, la ciclofosfamida puede administrarse en una dosis única o puede administrarse en una pluralidad de dosis, tal como administradas diariamente, cada dos días o cada tres días. En determinadas modalidades, la ciclofosfamida se administra

diariamente, tal como durante 1-5 días, por ejemplo, durante 2 a 4 días. En algunos casos, al sujeto se administra aproximadamente 300 mg/m^2 de ciclofosfamida, diariamente durante 3 días, antes del comienzo de la terapia celular.

[000746] En determinadas modalidades, donde el agente de agotamiento linfático comprende fludarabina, al sujeto se administra fludarabina en una dosis entre o entre aproximadamente 1 mg/m^2 y 100 mg/m^2 de área de superficie corporal del sujeto, tal como entre o entre aproximadamente 10 mg/m^2 y 75 mg/m^2, 15 mg/m^2 y 50 mg/m^2, 20 mg/m^2 y 40 mg/m^2, o 24 mg/m2^2 y 35 mg/m^2, inclusive. En algunos casos, al sujeto se administra aproximadamente 30 mg/m^2 de fludarabina. En determinadas modalidades, la fludarabina puede administrarse en una dosis única o puede administrarse en una pluralidad de dosis, tal como administradas diariamente, cada dos días o cada tres días. En determinadas modalidades, la fludarabina se administra diariamente, tal como durante 1-5 días, por ejemplo, durante 2 a 4 días. En algunos casos, al sujeto se administra aproximadamente 30 mg/m^2 de fludarabina, diariamente durante 3 días, antes del comienzo de la terapia celular.

[000747] En determinadas modalidades, el agente de agotamiento linfático comprende una combinación de agentes, tal como una combinación de ciclofosfamida y fludarabina. Por lo tanto, la combinación de agentes puede incluir

ciclofosfamida en cualquier dosis o programa de administración, tales como los descritos anteriormente, y fludarabina en cualquier dosis o programa de administración, tales como los descritos anteriormente. Por ejemplo, en algunos aspectos, al sujeto se administra fludarabina a o aproximadamente 30 mg/m^2, diariamente, y ciclofosfamida a o aproximadamente 300 mg/m^2, durante 3 días.

[000748] En determinadas modalidades, puede administrarse una terapia antiemética, excepto dexametasona u otros esteroides, antes de la quimioterapia de agotamiento linfático. En determinadas modalidades, puede usarse Mesna para sujetos con antecedentes de cistitis hemorrágica.

[000749] En determinadas modalidades, el agente adicional es un virus oncolítico. En determinadas modalidades, los virus oncolíticos son capaces de replicarse selectivamente en, y desencadenar la muerte de, o reducir el crecimiento de, una célula cancerosa. En algunos casos, los virus oncolíticos no tienen efecto o tienen un efecto mínimo en células no cancerosas. Un virus oncolítico incluye, entre otros, un adenovirus oncolítico, virus oncolíticos del herpes simple, retrovirus oncolítico, parvovirus oncolítico, virus vacuna oncolítico, virus Sinbis oncolítico, virus de la gripe oncolítico, o virus del ARN oncolítico (por ejemplo, reovirus oncolítico, virus de la enfermedad de Newcastle (NDV)

oncolítico, virus del sarampión oncolítico, o virus de la estomatitis vesicular (VSV) oncolítico).

[000750] Otras terapias de combinación, tratamientos y/o agentes ejemplares incluyen agentes antialergénicos, antieméticos, analgésicos y terapias de adjuntos. En determinadas modalidades, el agente adicional incluye agentes citoprotectores, tal como neuroprotectores, depuradores de radicales libres, cardioprotectores, neutralizantes de la extravasación de antraciclina y nutrientes.

[000751] En determinadas modalidades, un anticuerpo usado como agente adicional está conjugado o de cualquier otra manera unido a un agente terapéutico, por ejemplo, un agente quimioterapéutico (por ejemplo, citoxan, fludarabina, inhibidor de histona deacetilasa, agente demetilante, vacuna peptídica, antibiótico antitumoral, inhibidor de tirosina cinasas, agente alquilante, agente antimicrotúbulo o antimitótico), agente antialérgico, agente antináusea (o antiemético), analgésico, o agente citoprotector descrito en la presente. En determinadas modalidades, el agente adicional es un conjugado anticuerpo-fármaco.

[000752] En determinadas modalidades, el agente adicional puede modular, inhibir o estimular factores particulares a niveles de ADN, ARN o proteína, tal como para intensificar o reforzar ciertos aspectos. En determinadas modalidades, el agente adicional puede modular los factores a nivel de ácidos

nucleicos, por ejemplo, ADN o ARN, dentro de las células administradas, por ejemplo, células diseñadas para expresar receptores recombinantes, por ejemplo, CAR. En determinadas modalidades, puede usarse un ácido nucleico inhibitorio, por ejemplo, un ácido nucleico inhibitorio, por ejemplo, un ARNbc, por ejemplo, un ARNip o ARNhc, o unas repeticiones palindrómicas cortas regularmente interespaciadas (CRISPR), una nucleasa de actividad similar a activador de transcripción (TALEN), o una endonucleasa de dedo de cinc (ZFN), para inhibir la expresión de una molécula inhibitoria en la célula diseñada, por ejemplo, célula que expresa CAR. En determinadas modalidades el inhibidor es un ARNhc. En determinadas modalidades, la molécula inhibitoria se inhibe dentro de la célula diseñada, por ejemplo, célula que expresa CAR. En determinadas modalidades, una molécula de ácido nucleico que codifica una molécula del ARNbc que inhibe la expresión de la molécula que modula o regula, por ejemplo, inhibe, la función de linfocitos T está unida operativamente a un promotor, por ejemplo, un promotor derivado de HI o U6 de manera que la molécula del ARNbc que inhibe la expresión de la molécula inhibitoria se expresa dentro de la célula diseñada, por ejemplo, célula que expresa CAR. Véase, por ejemplo, Brummelkamp TR, et al. (2002) Science 296: 550- 553; Miyagishi M, et al. (2002) Nat. Biotechnol. 19: 497-500.

[000753] En determinadas modalidades, el agente adicional es capaz de provocar la disrupción del gen que codifica una molécula inhibitoria, tal como cualquier inhibidor de puntos de control inmunitario descrito en la presente. En determinadas modalidades, la disrupción es mediante deleción, por ejemplo, deleción de un gen entero, exón, o región, y/o sustitución con una secuencia exógena, y/o mediante mutación, por ejemplo, desplazamiento del marco de lectura o mutación sustitutiva, dentro del gen, típicamente dentro de un exón del gen. En determinadas modalidades, la disrupción da lugar a la incorporación en el gen de un codón de terminación prematuro, de manera que la molécula inhibitoria no se expresa o no se expresa en una forma que es capaz de ser expresada en la superficie celular y/o capaz de mediar la señalización celular. La disrupción se realiza generalmente a nivel de ADN. La disrupción es generalmente permanente, irreversible, o no transitoria.

[000754] En algunos aspectos, la interrupción se realiza mediante la edición de genes, como por ejemplo mediante el uso de una proteína de unión a ADN o un ácido nucleico de unión a ADN, que se unen, o hibridizan, específicamente al gen en una región objetivo para la interrupción. En algunos aspectos, la proteína o el ácido nucleico se acopla a una nucleasa, o forma un complejo con esta, como en una proteína quimérica o de fusión. Por ejemplo, en algunas modalidades,

la interrupción se genera mediante el uso de una fusión que comprende una proteína de direccionamiento a ADN y una nucleasa, tal como una Nucleasa con Dedos de Zinc (ZFN) o una nucleasa efectora TAL (TALEN), o una nucleasa dirigida a ARN, tal como un sistema de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (CRISPR)-Cas, tal como el sistema CRISPR-Cas9, específico para la interrupción génica. En algunas modalidades, los métodos de producción o generación de células genéticamente diseñadas, por ejemplo, células que expresan CAR, incluyen la introducción en una población de moléculas de ácido nucleico celular que codifican un receptor de antígenos diseñado genéticamente (por ejemplo, CAR) y moléculas de ácido nucleico que codifican un agente dirigido a una molécula inhibitoria, es decir una nucleasa de edición de genes, tal como una fusión de una proteína de direccionamiento a ADN y una nucleasa, como un ZFN o un TALEN, o una nucleasa de ARN guía, tal como el sistema CRISPRO-Cas9, específica para una molécula inhibitoria.

[000755] Cualquiera de los agentes adicionales descritos aquí se pueden preparar y administrar como una terapia de combinación con el receptor recombinante de unión a GPRC5D (por ejemplo, receptor de antígenos quiméricos) y/o células diseñadas que expresan dichas moléculas (por ejemplo, receptor recombinante) descritas aquí, tal como en las

composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agentes de la terapia de combinación un transportador aceptable farmacéuticamente, tal como cualquiera de los descritos aquí. Cualquiera de los agentes adicionales descritos aquí se pueden preparar y administrar como una terapia de combinación con el receptor recombinante de unión a GPRC5D (y de unión a BCMA) (por ejemplo, receptor de antígenos quiméricos) y/o células diseñadas que expresan dichas moléculas (por ejemplo, receptor recombinante) descritas aquí, tal como en las composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agentes de la terapia de combinación un transportador aceptable farmacéuticamente, tal como cualquiera de los descritos aquí. En algunas modalidades, el receptor recombinante de unión a GPRC5D (por ejemplo, receptor de antígenos quiméricos), las células diseñadas que expresan dichas moléculas (por ejemplo, receptor recombinante), la pluralidad de las células diseñadas que expresan dichas moléculas (por ejemplo, receptor recombinante) se pueden administrar de manera simultánea, concurrente o secuencial, en cualquier orden con los agentes, la terapia o tratamiento adicionales, siempre que dicha administración proporcione niveles terapéuticamente efectivos de cada uno de los agentes en el cuerpo del sujeto. En algunas modalidades, el agente adicional se puede administrar de manera conjunta con los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, las células y/o las

composiciones descritas aquí, por ejemplo, como parte de la misma composición farmacéutica o mediante el uso del mismo método de administración. En algunas modalidades, el agente adicional se administra simultáneamente con los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, las células y/o composiciones descritas aquí, pero en composiciones separadas. En algunas modalidades, el agente adicional es una célula diseñada adicional, por ejemplo, célula diseñada para expresar un receptor recombinante diferente, y se administra en la misma composición o en una composición separada. En algunas modalidades, el agente adicional se incuba con la célula diseñada, por ejemplo, células que expresan CAR, antes de la administración de las células.

[000756] En algunos ejemplos, el agente o los agentes más adicionales se administran posteriormente o antes de la administración de los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, las células y/o composiciones descritas aquí, separadas por un período de tiempo seleccionado. En algunos ejemplos, el agente o los agentes más adicionales se administran posteriormente o antes de la administración de los receptores recombinantes de unión a GPRC5D (y de unión a BCMA), las células y/o composiciones descritas aquí, separadas por un período de tiempo seleccionado. En algunos ejemplos, el período de tiempo es de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes,

2 meses o 3 meses. En algunos ejemplos, el agente o los agentes más adicionales se administran varias veces y/o los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, las células y/o composiciones descritas aquí, se administran varias veces. P. ej., en algunas modalidades, el agente adicional se administra antes de los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, las células y/o composiciones descritas aquí, por ejemplo, dos semanas, 12 días, 10 días, 8 días una semana, 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día antes de la administración. P. ej., en algunas modalidades, el agente adicional se administra después de los receptores recombinantes de unión a GPRC5D, las células y/o composiciones descritas aquí, por ejemplo, dos semanas, 12 días, 10 días, 8 días una semana, 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día después de la administración.

[000757] La dosis del agente adicional puede ser cualquier cantidad terapéuticamente efectiva, por ejemplo, cualquier cantidad de dosis descrita aquí, y la posología adecuada del agente adicional puede depender del tipo de enfermedad a tratar, el tipo, la dosis y/o la frecuencia del receptor recombinante, la célula y/o la composición administrada, la severidad y el transcurso de la enfermedad, si el receptor recombinante, la célula y/o composición se administran con fines preventivos o terapéuticos, la terapia previa, los antecedentes clínicos del paciente y la respuesta al receptor

recombinante, la célula y/o composición y el criterio del médico tratante. El receptor recombinante, la célula y/o composición y/o el agente y/o la terapia adicional se pueden administrar al paciente en una sola vez, en administraciones repetidas o durante una serie de tratamientos.

VI. Artículos de fabricación o kits

[000758] También se suministran artículos de fabricación o kits que contienen los receptores recombinantes suministrados (por ejemplo, CAR), las células diseñadas genéticamente y/o las composiciones que comprenden a estas. Los artículos de fabricación pueden incluir un recipiente y una etiqueta o prospecto de envase en o asociado con el recipiente. Los envases adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas, tubos de ensayo, bolsas de solución IV, etc. Los envases pueden estar formados de una variedad de materiales, tales como vidrio o plástico. En algunas modalidades, el recipiente tiene un orificio de acceso estéril. Los envases ideales incluyen una bolsa de solución intravenosa, viales, que incluyen los que tienen tapones perforables por una aguja para inyección. El artículo de fabricación o kit también puede incluir un inserto de empaque que indique que las composiciones se pueden utilizar para tratar una afección en particular, tal como una de las afecciones descritas aquí (por ejemplo, mieloma múltiple). Opcionalmente, o adicionalmente, el artículo de fabricación o kit también

puede incluir otro envase, o el mismo, que contenga una solución amortiguadora farmacéuticamente aceptable. Puede incluir adicionalmente otros materiales tal como otros agentes amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas, y/o jeringas.

[000759] La etiqueta o el inserto del empaque pueden indicar que la composición debe utilizarse para tratar la enfermedad, el trastorno o la afección que expresa GPRC5D o asociada con GPRC5D en un individuo. La etiqueta o el inserto del empaque, que se encuentra en el envase o está relacionada con este, puede contener instrucciones para la reconstitución y/o el uso de la formulación. La etiqueta o el inserto del empaque también pueden indicar que la formulación es útil o está prevista para la administración subcutánea, intravenosa u otro modo de administración para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno o afección que expresa GPRC5D o asociada con GPRC5D en un individuo.

[000760] El recipiente, en algunas modalidades, retiene una composición que es por si misma o combinada con otra composición, efectiva para tratamiento, prevención y/o diagnóstico de la condición. El artículo de fabricación o kit puede incluir (a) un primer envase con una composición dentro (es decir, el primer medicamento), donde la composición incluye al receptor recombinante (por ejemplo, CAR o célula diseñada que contiene el CAR); y (b) un segundo envase con

una composición dentro (es decir, el segundo medicamento); donde la composición incluye un agente adicional, tal como un agente citotóxico o de otro modo terapéutico, y cuyo artículo o kit también contiene instrucciones en la etiqueta o el inserto del empaque para el tratamiento del sujeto con el segundo medicamento, en una cantidad efectiva.

[000761] En algunas modalidades, el artículo de fabricación o kit puede incluir (a) un primer envase con una composición dentro (es decir, el primer medicamento), donde la composición incluye al receptor recombinante anti GPRC5D (por ejemplo, CAR o célula diseñada que contiene el CAR); (b) un segundo envase con una composición dentro (es decir, el segundo medicamento); donde la composición incluye un segundo receptor recombinante (por ejemplo, CAR o célula diseñada que contiene el CAR) dirigido a un epítopo diferente de GPRC5 D o un antígeno diferente (por ejemplo, BCMA), y cuyo artículo o kit también contiene instrucciones en la etiqueta o el inserto del empaque para el tratamiento del sujeto con el segundo medicamento, en una cantidad efectiva. En algunas modalidades, el artículo de fabricación o kit también puede incluir (c) un tercer envase con una composición dentro (es decir, el tercer medicamento), donde la composición incluye un agente adicional, tal como un agente citotóxico o de otro modo terapéutico y cuyo artículo o kit también contiene instrucciones en la etiquete o el inserto del empaque para el

tratamiento del sujeto con el tercer medicamento, en una cantidad efectiva.

VII. DEFINICIONES

[000762] Salvo que se defina lo contrario, todos los términos de las técnica, anotaciones y otros términos técnicos y específicos o terminología utiliza en la presente se proponen que tengan el mismo significado como se entiende comúnmente por un experto en la técnica a la cual pertenece la presente materia reivindicada. En algunos casos, los términos con significados comúnmente entendidos se definen en la presente para claridad y/o para referencia inmediata, y la inclusión de estas definiciones en la presente no se debe interpretar necesariamente que representa una diferencia sustancial sobre lo que se entiende en general en la técnica.

[000763] Como se utiliza en la presente, la referencia a una "forma correspondiente" de un anticuerpo significa que cuando se compara una propiedad o actividad de dos anticuerpos, la propiedad se compara utilizando la misma forma del anticuerpo. Por ejemplo, si se indica que un anticuerpo tiene mayor actividad en comparación a la actividad de la forma correspondiente de un primer anticuerpo, eso significa que una forma particular, tal como un scFv de ese anticuerpo, tiene mayor actividad en comparación a la forma de scFv del primer anticuerpo.

[000764] El término "región Fc" en la presente se utiliza para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. El término incluye las regiones Fc de secuencia nativa y las regiones Fc variables. En una modalidad, una región Fc de cadena pesada de IgG humana se extiende desde Cys226, o desde Pro230, hasta el extremo carboxilo de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C-terminal (Lys447) de la región Fc puede o puede no estar presente. Salvo que se especifique lo contrario en la presente, la numeración de residuos de aminoácidos en la región Fc o la región constante es de acuerdo con el sistema de numeración de UE, también llamado índice de UE, como se describe en Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

[000765] Los términos "anticuerpo de longitud completa", "anticuerpo intacto", y "anticuerpo completo" se utilizan en l presente indistintamente para referirse a un anticuerpo que tiene una estructura sustancialmente similar a una estructura de anticuerpo nativo o que tiene cadenas pesadas que contienen una región Fc como se define en la presente.

[000766] Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha separado de un componente de su entorno natural. En algunas modalidades, un anticuerpo se purifica a una pureza de más

del 95% o el 99% según lo determinado, por ejemplo, de manera electroforética (por ejemplo, SDS-PAGE, enfoque isoeléctrico [IEF]), electroforesis capilar o cromatografía (por ejemplo, intercambio de iones o HPLC de fase inversa). Para una revisión de los métodos de evaluación de la pureza de anticuerpos, consulte, por ejemplo, Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007).

[000767] Un ácido nucleico "aislado" se refiere a una molécula de ácido nucleico que se ha separado de un componente de su entorno natural. Un ácido nucleico aislado incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que ordinariamente contienen la molécula de ácido nucleico, pero la molécula de ácido nucleico está presente extracromosómicamente o en una ubicación cromosómica diferente de su ubicación cromosómica natural.

[000768] "Ácido nucleico aislado que codifica para un anticuerpo anti-idiotipo" se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican para cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos (o fragmentos de las mismas), incluyendo estas moléculas de ácido nucleico en un vector individual o en vectores separados, y estas moléculas de ácido nucleico presentes en una o más ubicaciones en una célula hospedadora.

[000769] Los términos "célula hospedadora", "línea de célula hospedadora", y "cultivo de célula hospedadora" se utilizan indistintamente y se refieren a células en las cuales se ha

introducido ácido nucleico exógeno, incluyendo la progenie de estas células. Las células hospedadoras incluyen "transformados" y "células transformadas", que incluyen la célula transformada primaria y progenie derivada de la misma sin considerar el número de pasajes. La progenie no puede ser completamente idéntica en contenido de ácido nucleico a una célula original, pero puede contener mutaciones. La progenie mutante que tiene la misma función o actividad biológica como se examina o se selecciona, en la célula originalmente transformada se incluye en la presente.

[000770] Los términos "polipéptido", y "proteína" se utilizan indistintamente para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos, y no se limitan a una longitud mínima. Los polipéptidos, incluidos los anticuerpos y las cadenas de anticuerpos y demás péptidos, por ejemplo, ligandos, pueden incluir residuos de aminoácidos que incluyen residuos de aminoácidos naturales y/o no naturales. Los términos también incluyen modificaciones pos-expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilación, sialilación, acetilación, fosforilación, y similares. En algunos aspectos, los polipéptidos pueden contener modificaciones con respecto a una secuencia nativa o natural, siempre que la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, como a través de mutagénesis dirigida por el sitio, o pueden ser accidentales, tal como a través de

mutaciones de hospedadores que producen las proteínas o errores debido a la amplificación de PCR.

[000771] Como se utiliza en la presente, "identidad de secuencia de aminoácidos porcentual (%)","identidad porcentual" e "identidad de secuencia" al ser utilizados respecto de una secuencia de aminoácidos (secuencia de polipéptidos de referencia) se definen como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidata (por ejemplo, anticuerpo o fragmento del sujeto) que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia de polipéptidos de referencia, después de alinear las secuencias e introducir las brechas, si fuera necesario, para alcanzar la identidad de secuencia porcentual máxima, y sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. La alineación para propósitos de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos se puede lograr de varias formas que están dentro de la experiencia en la técnica, por ejemplo, usando software de computadora públicamente disponible tal como software BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 o Megalign (DNASTAR). Aquellos expertos en la técnica pueden determinar parámetros apropiados para alinear secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para lograr la alineación máxima sobre la longitud completa de las secuencias que se comparan.

[000772] Una sustitución de aminoácidos puede incluir el reemplazo de un aminoácido en un polipéptido con otro aminoácido. Las sustituciones de aminoácidos se pueden introducir en una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, de interés y los productos seleccionados para una actividad deseada, por ejemplo, la unión a antígenos retenidos/mejorados, o inmunogenicidad disminuida.

[000773] Los aminoácidos en general se pueden agrupar de acuerdo con las siguientes propiedades comunes de cadena lateral:

(1) hidrófobo: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

(2) Hidrófilo neutral: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

(3) Ácido: Asp, Glu;

(4) básico: Su, Lys, Arg;

(5) residuos que influyen en la orientación de cadena: Gly, Pro;

(6) aromático: Trp, Tyr, Phe.

[000774] Las sustituciones no conservadoras de aminoácidos implicarán el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

[000775] El término “vector”, como se utiliza en la presente, se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de propagar otro ácido nucleico al cual se vincula. El término incluye el vector como una estructura de ácido nucleico auto-replicante así como el vector incorporado en el

genoma de una célula hospedadora en la cual se ha introducido. Ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de ácidos nucleicos a los cuales se vinculan operativamente. Estos vectores se conocen en la presente como "vectores de expresión".

[000776] El término "prospecto de envase" se utiliza para referirse a instrucciones incluidas habitualmente en envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, terapia de combinación, contraindicaciones y/o advertencias con respecto al uso de estos productos terapéuticos.

[000777] Como se utiliza en la presente, las formas singulares "uno", "una", y "el" y "la" incluyen referentes plurales salvo que el contexto dicte claramente lo contrario. Por ejemplo, "uno" o "un" significa "al menos uno" o "uno o más". Se entiende que los aspectos, las modalidades y las variaciones descritas aquí incluyen "comprender", "constar de" y/o "constar esencialmente de" los aspectos, las modalidades y las variaciones.

[000778] De principio a fin de esta descripción, se presentan varios aspectos de la presente materia reivindicada en un formato de intervalo. Se debe entender que la descripción en formato de intervalo simplemente es para conveniencia y brevedad y no se debe interpretar como una

limitación inflexible en el alcance de la presente materia reivindicada. Por consiguiente, la descripción de un intervalo se debe considerar que ha descrito específicamente todos los subintervalos posibles así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, donde se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo indicado se abarca dentro de la presente materia reivindicada. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños se pueden incluir independientemente en los intervalos más pequeños, y también se abarcan dentro de la presente materia reivindicada, sujeta a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Donde el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los valores que excluyen cualquiera o ambos de aquellos límites incluidos también se incluyen en la presente materia reivindicada. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

[000779] El término “aproximadamente” como se utiliza en la presente se refiere al intervalo de usual error usual para el respectivo valor fácilmente conocido por el experto en la técnica en este campo técnico. La referencia a “aproximadamente” un valor o parámetro en la presente incluye (y describe) modalidades que se refieren a ese valor o

parámetro por sí mismo. Por ejemplo, la descripción que se refiere a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X".

[000780] Como se utiliza en la presente, una composición se refiere a cualquier mezcla de dos o más productos, sustancias, o compuestos, incluyendo células. Puede ser una solución, una suspensión, líquido, polvo, una pasta, acuosa o no acuosa o cualquier combinación de las mismas.

[000781] Como se utiliza en la presente, una declaración de que una célula o población de células es "positiva" para un marcador particular se refiere a la presencia detectable sobre, o en la célula de un marcador particular, habitualmente un marcador de superficie. Cuando se refiere a un marcador de superficie, el término se refiere a la presencia de expresión en superficie como se detecta por citometría de flujo, por ejemplo, por tinción con un anticuerpo que se une en específico al marcador y que detecta el anticuerpo, en donde la tinción es detectable por citometría de flujo a un nivel sustancialmente por encima de la tinción detectada llevando a cabo el mismo procedimiento con un control coincidido por isotipo bajo condiciones idénticas de otra manera y/o a un nivel sustancialmente similar a ese para la célula conocida que es positiva para el marcador, y/o a un nivel sustancialmente más alto que ese para una célula conocida que es negativa para el marcador.

[000782] Como se utiliza en la presente, una declaración de que una célula o población de células es "negativa" para un marcador particular se refiere a la ausencia de la presencia detectable sustancial sobre, o en la célula de un marcador particular, habitualmente un marcador de superficie. Cuando se refiere a un marcador de superficie, el término se refiere a la ausencia de expresión en superficie como se detecta por citometría de flujo, por ejemplo, por tinción con un anticuerpo que se une en específico al marcador y que detecta el anticuerpo, en donde la tinción no se detecta por citometría de flujo a un nivel sustancialmente por encima de la tinción detectada llevando a cabo el mismo procedimiento con un control coincidido por isotipo bajo condiciones idénticas de otra manera, y/o a un nivel sustancialmente menor que ese para una célula conocida que es positiva para un marcador, y/o a un nivel sustancialmente similar en comparación a ese para una célula conocida que es negativa para el marcador.

VIII. MODALIDADES DE EJEMPLO

[000783] Entre las modalidades proporcionadas están:

1. Un receptor de antígenos quiméricos que comprende:

(1) un dominio de unión a antígenos extracelulares que se une específicamente al miembro D del grupo 5 de clase C del receptor acoplado a proteínas G humanas (GPRC5D), donde el dominio de unión a antígenos extracelulares comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68 o 69;

(2) un espaciador de al menos 125 aminoácidos en longitud;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

2. Un receptor de antígenos quiméricos que comprende:

(1) un dominio de unión a antígenos extracelulares que

se une específicamente al miembro D del grupo 5 de clase C del receptor acoplado a proteínas G humanas (GPRC5D), donde el dominio de unión a antígenos extracelulares comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una complementariedad de cadena pesada que determina la región 1 (CDR-H1), una complementariedad de cadena pesada que determina la región 2 (CDR-H2) y una complementariedad de cadena pesada que determina la región 3 (CDR-H3) contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionada a partir de SEQ ID n.°: 21, 23, 25, 27, 29, 31, y 33; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (CDR-L1), una región determinante de complementariedad de cadena ligera 2 (CDR-L2) y una región determinante de complementariedad de cadena ligera 3 (CDR-L3) contenida dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionada a partir de SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63, 64, 65, 66, 67, 68, y 69;

(2) un espaciador de al menos 125 aminoácidos en longitud;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

3. Un receptor de antígenos quiméricos que comprende:

(1) un dominio de unión a antígenos extracelulares que

se une específicamente al miembro D del grupo 5 de clase C del receptor acoplado a proteínas G humanas (GPRC5D), donde el dominio de unión a antígenos extracelulares comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende un CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada a partir de SEQ ID n.°: 75, 78, 80, 82, 90, 93, 95, 97, 105, 108, 110, 112, 120, 123, 125, 127, 135, 138, 140, 142, 152, 162, 165, 167, y 169; (b) un CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada a partir de SEQ ID n.°: 76, 79, 81, 83, 91, 94, 96, 98, 106, 109, 111, 113, 121, 124, 126, 128, 136, 139, 141, 143, 150, 153, 154, 155, 163, 166, 168, and 170; y (c) un CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada a partir de SEQ ID n.°: 77, 84, 92, 99, 107, 114, 122, 129, 137, 144, 151, 156, 164, y 171; y

(ii) una región de variable de cadena liviana (V_L) que comprende un CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID n.° 85, 88, 100, 103, 115, 118, 130, 133, 145, 148, 157, 160, 172 y 174; (b) un CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID n.° 86, 89, 101, 104, 116, 119, 131, 134, 146, 149, 158 o 161; y (c) una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquier SEQ ID n.°: 87, 102, 117, 132, 147, 159, 173, 175, y 297;

(2) un espaciador de al menos 125 aminoácidos en longitud;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

4. El receptor de antígenos quiméricos de la forma de modalidad 2 o la forma de modalidad 3, donde el dominio de unión a antígenos extracelulares comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:21, 23, 25, 27, 29, 31 o 33; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 63,

64, 65, 66, 67, 68 o 69.

5. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-4, donde el espaciador tiene una longitud de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 300 o de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 300, de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 250 o de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 250, de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 230 o de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 230, de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 200 o de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 200, de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 180 o de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 180, de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 150 o de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 150, de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 300 o de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 300, de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 250 o de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 250, de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 230 o de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 230, de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 200 o de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 200, de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 180 o de entre aproximadamente 150 y aproximadamente 180, de entre

aproximadamente 180 y aproximadamente 300 o de entre aproximadamente 180 y aproximadamente 300, de entre aproximadamente 180 y aproximadamente 250 o de entre aproximadamente 180 y aproximadamente 250, de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 300 o de entre aproximadamente 125 y aproximadamente 300, de entre aproximadamente 180 y aproximadamente 230 o de entre aproximadamente 180 y aproximadamente 230, de entre aproximadamente 180 y aproximadamente 200 o de entre aproximadamente 180 y aproximadamente 200, de entre aproximadamente 200 y aproximadamente 300 o de entre aproximadamente 200 y aproximadamente 300, de entre aproximadamente 200 y aproximadamente 250 o de entre aproximadamente 200 y aproximadamente 250, de entre aproximadamente 200 y aproximadamente 230 o de entre aproximadamente 200 y aproximadamente 230, de entre aproximadamente 230 y aproximadamente 300 o de entre aproximadamente 230 y aproximadamente 300, de entre aproximadamente 230 y aproximadamente 250 o de entre aproximadamente 230 y aproximadamente 250 o de entre aproximadamente 250 y 300 o de entre aproximadamente 250 y aproximadamente 300.

6. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-5, donde:

el espaciador tiene, o al menos tiene

aproximadamente, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 o 229 aminoácidos en longitud, o tiene una longitud de entre cualquiera de lo anterior; o

el espaciador tiene aproximadamente, o al menos tiene aproximadamente, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 o 229 aminoácidos en longitud, o tiene una longitud de entre cualquiera de lo anterior.

7. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-6, donde el espaciador comprende una parte de una inmunoglobulina.

8. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-7, donde el espaciador comprende una secuencia de una región bisagra, una región CH2 y CH3.

9. El receptor de antígenos quiméricos de la forma de modalidad 8, donde:

la región bisagra comprende toda, o una parte de una región bisagra de IgG4 y/o una región bisagra de IgG2, donde la región bisagra de IgG4 es opcionalmente una región bisagra de IgG4 humana y la región bisagra de IgG2 es opcionalmente una región bisagra de IgG2 humana;

la región CH2 comprende toda, o una parte de una CH2 de IgG4 y/o una CH2 de IgG2, donde la CH2 de IgG4 es opcionalmente una CH2 de IgG4 humana y la CH2 de IgG2 es

opcionalmente una CH2 de IgG2 humana; y/o

la región CH3 comprende toda, o una parte de una CH3 de IgG4 y/o una CH3 de IgG2, donde la CH3 de IgG4 es opcionalmente una CH3 de IgG4 humana y la CH3 de IgG2 es opcionalmente una CH3 de IgG2 humana.

10. El receptor de antígenos quiméricos de la forma de modalidad 8 o la forma de modalidad 9, donde la región bisagra, la CH2 y la CH3 comprende toda, o una parte de una bisagra, toda o una parte de una CH2 y toda, o una parte de una CH3 de IgG4 humana.

11. El receptor de antígenos quiméricos de la forma de modalidad 8 o la forma de modalidad 9, donde una o más de la región bisagra, la CH2 y la CH3 es quimérica y comprende una bisagra, una CH2 y una CH3 de IgG4 humana e IgG2 humana.

12. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-11, donde el espaciador comprende una región bisagra quimérica de IgG4/2 o una región bisagra de IgG4 modificada, que comprende al menos un reemplazo de aminoácido, en comparación con una bisagra de IgG4 humana; una región de CH2 quimérica de IgG2/4 y una región de CH3 de IgG4.

13. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-12, donde el espaciador es o comprende (i) la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 17; (ii) una variable funcional de SEQ ID n.°: 17 que tiene una identidad

de secuencia de al menos, o aproximadamente, el 95%, el o aproximadamente el 96%, el o aproximadamente el 97%, el o aproximadamente el 98%, el o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 17; o (iii) una parte adyacente de (i) o (ii) que tiene una longitud de al menos 125 aminoácidos.

14. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-13, donde el espaciador es o comprende la secuencia establecida en SEQ ID n.°: 17; (ii) una variable funcional de SEQ ID n.°: 17.

15. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-14, donde el espaciador es o comprende la secuencia codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 48.

16. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-15, donde:

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 21 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 21; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 22 o una secuencia de aminoácidos

que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 22;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 21 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 21; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 63 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 63;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 23 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el

90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 23; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 24 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 24;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 23 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 23; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 64 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el

92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 64;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 25 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 25; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 26 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 26;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 25 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el

94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 25; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 65 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 65;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 27; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 28 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el

96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 28;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 27; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 66 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 66;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 29 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el

98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 29; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 30 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 30;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 29 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 29; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 67 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 67;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 31 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 31; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 32 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 32;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 31 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 31; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos

establecida en SEQ ID n.°: 68 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 68;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 33 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 33; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 34 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 34; o

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos

establecida en SEQ ID n.°: 33 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 33; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 69 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 69.

17. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-16, donde:

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 80, 81 y 77, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 85, 86 y 87, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 82, 83 y 84, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1,

CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 88, 89 y 87, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 95, 96, 92, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 97, 98 y 99, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 103, 104 y 102, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 110, 111 y 107, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 115, 116 y 117, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 112, 113 y 114, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 118, 119 y 117, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-

L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 127, 128 y 129, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 133, 134 y 132, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 140, 141 y 137, respectivamente, y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 145, 146 y 147, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 142, 143 y 144, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 148, 149 y 147, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 140, 154 y 151, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 142, 155 y 156, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-

L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 160, 161 y 159, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 167, 168 y 164, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 172, 86, 173, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 169, 170 y 171, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 174, 89 y 175, respectivamente; o

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 169, 170 y 171, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 174, 89 y 297, respectivamente.

18. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-17, donde:

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 21 y 22, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 21 y 63, respectivamente;

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 23 y 24,

respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 23 y 64, respectivamente;

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 25 y 26, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 25 y 65, respectivamente;

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 y 28, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 y 66, respectivamente;

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 29 y 30, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 29 y 67, respectivamente;

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 31 y 32, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 31 y/o 68, respectivamente; o

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 33 y 34, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 33 y 69, respectivamente, respectivamente.

19. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-18, donde:

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos

establecida en SEQ ID n.°: 21 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 21; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 22 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 22;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 21 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 21; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 63 o una secuencia de aminoácidos

que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 63;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 23 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 23; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 24 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 24;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 23 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el

90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 23; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 64 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 64;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 27; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 28 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el

92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 28;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 27; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 66 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 66;

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 31 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el

94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 31; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 32 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 32; o

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 31 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 31; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 68 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el

94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 68.

20. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-19, donde:

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 80, 81 y 77, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 85, 86 y 87, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 82, 83 y 84, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 88, 89 y 87, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 95, 96, 92, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 100, 101 y 102, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 97, 98 y 99, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 103, 104 y 102, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 127, 128 y 129, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 133, 134 y 132, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 140, 154 y 151, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 157, 158 y 159, respectivamente; o

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 142, 155 y 156, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.°: 160, 161 y 159, respectivamente.

21. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-20, donde:

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 21 y 22, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en

SEQ ID n.°: 21 y 63, respectivamente;

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 23 y 24, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 23 y 64, respectivamente;

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 y 28, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 y/o 66, respectivamente; o

la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 31 y 32, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 31 y 68, respectivamente.

22. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-21, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular es de reacción cruzada o se une a GPRC5D de ratón.

23. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-22, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular es de reactividad cruzada o se une a la GPRC5D de cynomolgus.

24. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-21, en donde el dominio de unión a antígeno extracelular no es de reacción cruzada o no se une a la GPRC5D de ratón o a la GPRC5D de cynomolgus.

25. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1 y 24, donde:

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 27; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 28 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 28; o

la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el

96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 27; y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 66 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el, o aproximadamente el 90%, el, o aproximadamente el 91%, el, o aproximadamente el 92%, el, o aproximadamente el 93%, el, o aproximadamente el 94%, el, o aproximadamente el 95%, el, o aproximadamente el 96%, el, o aproximadamente el 97%, el, o aproximadamente el 98%, el, o aproximadamente el 99% respecto de SEQ ID n.°: 66.

26. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-21, 24 y 25, que comprende una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende un CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidos dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_H establecida en SEQ ID n.°: 27; y una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenidos dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en SEQ ID n.°: 28 o 66;

27. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-21 y 24-26, donde la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente.

28. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-21 y 24-26, donde la región de V_H

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 127, 128 y 129, respectivamente, y la región de V_L comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 133, 134 y 132, respectivamente.

29. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-21 y 24-26, donde la región de V_H comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 120, 121 y 122, respectivamente, y la región de V_L comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente.

30. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-21 y 24-26, donde la región V_H comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 123, 124 y 122, respectivamente, y la región V_L comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente.

31. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-21 y 24-30, donde la región V_H y la región V_L comprenden la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 y 28, respectivamente, o la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27 y 66, respectivamente.

32. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-31, donde el dominio de unión a antígenos extracelulares es un fragmento de anticuerpos de cadena simple.

33. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-32, donde el fragmento de anticuerpos de cadena simple es o comprende un fragmento variable de cadena simple (scFv).

34. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1 a la 33, donde la región V_H y la región V_L están unidas por un aglutinante flexible.

35. El receptor de antígeno quimérico de la forma de modalidad 34, donde el aglutinante comprende la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.° 52).

36. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1 a la 35, donde la región V_H es una terminal amino de la región V_L.

37. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-36, donde:

el dominio de unión a antígeno extracelular comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o

aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13; y/o

el dominio de unión a antígeno extracelular está codificado por la secuencia de nucleótidos seleccionada de SEQ ID n.° 257, 259, 261, 263, 265, 267 y 269, o una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de nucleótidos seleccionada de SEQ ID n.° 257, 259, 261, 263, 265, 267 y 269.

38. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1 a la 37, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13.

39. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1 a la 37, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° .° 1, 3, 7 y 11, o una secuencia

de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 1, 3, 7, y 11.

40. .El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-37 y 39, donde el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 1, 3, 7, y 11.

41. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-36 y 38, donde el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 7, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o

aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 7.

42. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-37, 39 y 41, donde el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 7.

43. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-35, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L.

44. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 1-35 y 43, donde:

el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14; y/o

el dominio de unión a antígeno extracelular está codificado por la secuencia de nucleótidos seleccionada de SEQ ID n.° 258, 260, 262, 264, 266, 268 y 270, o una secuencia de nucleótidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de nucleótidos seleccionada de SEQ ID n.° 258, 260, 262, 264, 266, 268 y 270.

45. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-35, 43 y 44, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14.

46. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-35, 43 y 44, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° .° 2, 4, 8 y 12, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente

este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 2, 4, 8, y 12.

47. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-35, 43, 44 y 46, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 2, 4, 8, y 12.

48. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-35, 43, 44 y 46, donde el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 8, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de

secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 8.

49. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-35, 43, 44, 46 y 48, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 8.

50. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-49, donde la región de señalización intracelular comprende un dominio de señalización citoplásmico intracelular.

51. El receptor de antígeno quimérico de la modalidad 50, en donde el dominio de señalización intracelular es capaz de inducir una señal de activación primaria en una célula T, es un componente de receptor de células T (TCR) y/o comprende un motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM).

52. El receptor de antígeno quimérico de la forma de modalidad 51, donde el dominio de señalización intracelular es o comprende un dominio de señalización citoplásmico de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o una fracción de señalización de este.

53. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 50-52, en el que el dominio de señalización intracelular es humano o es de una proteína humana.

54. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de

las modalidades 50-53, donde el dominio de señalización intracelular es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 20 o un aminoácido que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 20.

55. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 50-54, donde la región de señalización intracelular además comprende una región de señalización co-estimulante.

56. El receptor de antígeno quimérico de la modalidad 55, en donde la región de señalización coestimulante comprende un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulante de células T o una fracción de señalización de la misma.

57. El receptor de antígeno quimérico de la forma de modalidad 56, donde la región de señalización co-estimulante comprende un dominio de señalización intracelular de CD28, 4-1BB o ICOS, o una fracción de señalización de estos.

58. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 55-57, en donde la región de señalización costimulante es humana o es de una proteína humana.

59. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 55-58, donde la región de señalización co-estimulante comprende un dominio de señalización intracelular de CD28.

60. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 55-59, donde la región de señalización co-estimulante es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 46 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje, el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 46.

61. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 55-58, donde la región de señalización co-estimulante comprende un dominio de señalización intracelular de 4-1BB.

62. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 55-58 y 61, donde la región de señalización co-estimulante es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 19 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 19.

63. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 55-62, donde la región de señalización co-estimulante se encuentra entre el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

64. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-63, donde el dominio transmembrana es o comprende un dominio transmembrana de CD4, CD28 o CD8.

65. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-64, donde el dominio transmembrana es o comprende un dominio transmembrana derivado de CD28.

66. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de

las modalidades 1-65, en donde el dominio transmembrana es humano o es de una proteína humana.

67. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-66, donde el dominio transmembrana es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 18 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 18.

68. Un receptor de antígenos quiméricos que comprende:

(1) un dominio de unión a antígenos extracelulares que se une específicamente al miembro D del grupo 5 de clase C del receptor acoplado a proteínas G humanas (GPRC5D), donde el dominio de unión a antígenos extracelulares comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o

aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 27; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 28 o 66;

(2) un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana de CD28 humana; y

(4) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización citoplásmico de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) y un dominio de señalización

intracelular de una molécula co-estimulante de linfocitos T.

69. El receptor de antígenos quiméricos de la forma de modalidad 68, donde:

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 27; y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 28 o 66; o

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 125, 126 y 122, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 130, 131 y 132, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 127, 128 y 129, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID n.°: 133, 134 y 132, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 120, 121 y 122, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.°: 130, 131 y 132, respectivamente;

la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que

comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 123, 124 y 122, respectivamente, y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 130, 131 y 132, respectivamente.

70. Un receptor de antígenos quiméricos que comprende:

(1) un dominio de unión a antígenos extracelulares que se une específicamente al miembro D del grupo 5 de clase C del receptor acoplado a proteínas G humanas (GPRC5D), donde el dominio de unión a antígenos extracelulares comprende:

una región V_H que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 27; y una región de cadena variable (V_L) que comprende un CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenidos dentro de la secuencia de aminoácidos de la región V_L establecida en SEQ ID n.°: 28 o 66; o

una región V_H que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 125, 126 y 122, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 130, 131 y 132, respectivamente;

una región V_H que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 127, 128 y 129, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 133, 134 y 132, respectivamente;

una región V_H que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 120, 121 y 122, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 130, 131 y 132, respectivamente; o

una región V_H que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 123, 124 y 122, respectivamente, y una región V_L que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 130, 131 y 132, respectivamente;

(2) un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana de CD28 humana; y

(4) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización citoplásmico de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) humana y un dominio de señalización intracelular de una CD28 humana o de una 4-1BB humana.

71. El receptor de antígenos quiméricos de cualquiera de las modalidades 68-70, donde:

el dominio de unión a antígeno extracelular comprende la región V_H de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 27 y la región V_L de la secuencia de

aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 28 o 66; y/o

el dominio de unión a antígeno extracelular comprende un scFv estipulado en SEQ ID n.° 7 o SEQ ID n.° 8.

72. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 68-71, donde el dominio transmembrana es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 18 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 18.

73. El receptor de antígeno quimérico de la modalidad 72, en donde el dominio transmembrana es o comprende la secuencia estipulada en SEQ ID N.°:18.

74. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 68-73, donde la región de señalización intracelular comprende (a) la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o

aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 20 y (b) la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 46 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 46. 46.

75. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 68-74, donde la región de señalización intracelular es o comprende las secuencias estipuladas en SEQ ID n.° 20 y en SEQ ID n.° 46.

76. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 68-73, donde la región de señalización intracelular comprende (a) la secuencia de aminoácidos

estipulada en SEQ ID n.° 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 20 y (b) la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 19 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 46. 19.

77. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 68-73 y 76, en donde la región de señalización intracelular es o comprende las secuencias estipuladas en SEQ ID n.° 20 y SEQ ID n.° 19.

78. El receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-77, donde el receptor de antígeno quimérico codificado comprende desde su terminación N a C en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

79. Un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades de la 1-78.

80. El polinucleótido de la forma de modalidad 79, donde el ácido nucleico que codifica el espaciador comprende al menos un lugar del donante del empalme modificado y/o un lugar del aceptador del empalme, dicho lugar del donante del empalme modificado y/o lugar del aceptador comprenden una o más modificaciones del nucleótido que corresponden a un lugar del donante del empalme de referencia y/o a un lugar del aceptador del empalme de referencia en la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 73.

81. El polinucleótido de la forma de modalidad 80, donde una o más modificaciones del nucleótido comprenden una sustitución de aminoácidos.

82. El polinucleótido de la modalidad 80 o la modalidad 81, donde los lugares del donante del empalme y/o del aceptador de referencia son lugares de empalme canónicos, no canónicos, o crípticos.

83. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades

80-82, donde:

el lugar del donante del empalme de referencia y/o el lugar del aceptador del empalme de referencia tienen un puntaje de predicción del lugar del empalme de al menos 0.4 o aproximadamente este puntaje, 0.5 o aproximadamente este puntaje, 0.6 o aproximadamente este puntaje, 0,70 o aproximadamente este puntaje, 0,75 o aproximadamente este puntaje, 0,80 o aproximadamente este puntaje, 0,85 o aproximadamente este puntaje, 0,90 o aproximadamente este puntaje, 0,95 o aproximadamente este puntaje, 0,99 o aproximadamente este puntaje o 1.0 o aproximadamente este puntaje; y/o

se predice que el lugar del donante del empalme de referencia y/o el lugar del aceptador del empalme de referencia están implicados en un evento de empalme con una probabilidad de al menos el 40% o aproximadamente este porcentaje, el 50% o aproximadamente este porcentaje, el 60% o aproximadamente este porcentaje, el 70% o aproximadamente este porcentaje, el 75% o aproximadamente este porcentaje, el 80% o aproximadamente este porcentaje, el 85% o aproximadamente este porcentaje, el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 99% o aproximadamente este porcentaje o el 100% o aproximadamente este porcentaje.

84. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades

80-83, donde:

el lugar del donante del empalme de referencia comprende la secuencia aatctaagtacggac (SEQ ID n.° 176), tcaactggtacgtgg (SEQ ID n.° 177), acaattagtaaggca (SEQ ID n.° 178) y/o accacaggtgtatac (SEQ ID n.° 179); y/o

el lugar del aceptador del empalme de referencia comprende la secuencia aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID n.° 180) y/o gggcaacgtgttctcttgcagtgtcatgcacgaagccctgc (SEQ ID n.° 181).

85. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 80-84, donde:

el lugar del donante del empalme de referencia y/o el lugar del aceptador del empalme de referencia tienen un puntaje de predicción del lugar del empalme de al menos 0.4 o aproximadamente este puntaje, 0.5 o aproximadamente este puntaje, 0.6 o aproximadamente este puntaje, 0,70 o aproximadamente este puntaje, 0,75 o aproximadamente este puntaje, 0,80 o aproximadamente este puntaje, 0,85 o aproximadamente este puntaje, 0,90 o aproximadamente este puntaje, 0,95 o aproximadamente este puntaje, 0,99 o aproximadamente este puntaje o 1.0 o aproximadamente este puntaje; y/o

se predice que el lugar del donante del empalme de referencia y/o el lugar del aceptador del empalme de

referencia están implicados en un evento de empalme con una probabilidad de al menos el 70% o aproximadamente este porcentaje, el 75% o aproximadamente este porcentaje, el 80% o aproximadamente este porcentaje, el 85% o aproximadamente este porcentaje, el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 99% o aproximadamente este porcentaje o el 100% o aproximadamente este porcentaje.

86. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 80-85, donde:

el lugar del donante del empalme de referencia comprende la secuencia tcaactggtacgtgg (SEQ ID n.° 177); y/o

el lugar del aceptador del empalme de referencia comprende la secuencia aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID n.° 180).

87. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 80-86, donde al menos una modificación nucleótida o más se encuentran dentro de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos de la unión del sitio de empalme del sitio aceptor de empalme y/o el sitio donante de empalme de referencia.

88. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 80-87, donde una o más modificaciones del nucleótido son silenciosas y/o resultan en un codón degenerado en comparación con SEQ ID n.° 73 y/o no cambia la secuencia de aminoácidos del espaciador codificado.

89. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 80-88, donde:

el lugar del donante del empalme modificado está estipulado en agtctaaatacggac (SEQ ID n.° 182), tcaactggtatgtgg (SEQ ID n.° 183), accatctccaaggcc (SEQ ID n.° 184) y/o gccccaggtttacac (SEQ ID n.° 185); y/o

el lugar del aceptador del empalme modificado está estipulado en cagtttcttcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa (SEQ ID n.° 186), gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgc (SEQ ID n.° 187) y/o cgccttgtcctccttgtcccgctcctcctgttgccggacct (SEQ ID n.°:188).

90. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 80-89, donde el lugar del donante del empalme modificado está estipulado en tcaactggtatgtgg (SEQ ID n.° 183) y/o el lugar del aceptador modificado está estipulado en cagtttcttcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa (SEQ ID n.° 186) y/o

cgccttgtcctccttgtcccgctcctcctgttgccggacct (SEQ ID n.° 188).

91. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 80-90, donde el espaciador está codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 74 o una porción de la misma.

92. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-91, en donde tras la expresión del polinucleótido en una

célula, el ARN transcrito, opcionalmente el ARN mensajero (ARNm), del polinucleótido, presenta al menos el, o aproximadamente el 70%, el, o aproximadamente el 75%, el, o aproximadamente el 80%, el, o aproximadamente el 85%, el, o aproximadamente el 90%, o el, o aproximadamente el 95% de homogeneidad de ARN.

93. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 79-92, donde, tras la expresión en una célula, el ARN transcripto, opcionalmente el ARN mensajero (ARNm), del polinucleótido exhibe heterogeneidad reducida en comparación con la heterogeneidad del ARNm transcripto de un polinucleótido de referencia, tal polinucleótido de referencia codifica la misma secuencia de aminoácidos que el polinucleótido, donde el polinucleótido de referencia difiere por la presencia de uno o más lugares del donante del empalme y/o uno o más lugares del aceptador del empalme en el ácido nucleico que codifica el espaciador y/o comprende una o más modificaciones del nucleótido en comparación con el polinucleótido y/o comprende el espaciador estipulado en SEQ ID n.° 73.

94. El polinucleótido de la modalidad 93, donde la heterogeneidad de ARN se reduce en más del, o aproximadamente el 10%, del, o aproximadamente el 15%, del, o aproximadamente el 20%, del, o aproximadamente el 25%, del, o aproximadamente el 30%, del, o aproximadamente el 40%, del, o aproximadamente

el 50% o más.

95. El polinucleótido de la modalidad 93 o de la modalidad 94, donde el ARN transcrito, opcionalmente el ARN mensajero (ARNm), del polinucleótido de referencia exhibe una heterogeneidad del ARN mayor que el, o aproximadamente el 10%, el, o aproximadamente el 15%, el, o aproximadamente el 20%, el, o aproximadamente el 25%, el, o aproximadamente el 30%, el, o aproximadamente el 50% o más.

96. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-95, donde la homogeneidad y/o heterogeneidad del ARN se determina por electroforesis en gel de agarosa, electroforesis capilar basada en chip, ultracentrifugación analítica, fraccionamiento de flujo de campo, o cromatografía líquida.

97. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 79-96, donde el polinucleótido está optimizado por codones para la expresión en una célula humana.

98. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 79-96, donde el receptor de antígeno quimérico es un primer receptor de antígeno quimérico y el polinucleótido además comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico.

99. El polinucleótido de la forma de modalidad 98, donde el primer y el segundo receptor de antígeno quimérico están separados por uno o más elementos multicistrónicos.

100. El polinucleótido de la forma de modalidad 81, donde uno o más elementos multicistrónicos son o comprenden una secuencia de omisión del ribosoma, opcionalmente, donde la secuencia de omisión del ribosoma es un elemento T2A, P2A, E2A o F2A.

101. El polinucleótido de la modalidad 100, donde la secuencia de nucleótidos que codifica el uno o más elementos multicistrónicos está bifurcada por codones.

102. El polinucleótido de la modalidad 100 o de la modalidad 101, donde la secuencia de nucleótidos que codifica el uno o más elementos multicistrónicos es o comprende la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 319. 103. El polinucleótido de cualquiera de la modalidades 98-102, donde el segundo receptor de antígeno quimérico (CAR) comprende un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une un segundo antígeno expresado en el mieloma múltiple o relacionado con el mieloma múltiple.

104. El polinucleótido de 103, donde el segundo CAR además comprende un espaciador, un dominio transmembrana y una región de señalización intracelular.

105. El polinucleótido de la forma de modalidad 103 o de la forma de modalidad 104, donde el segundo antígeno se selecciona del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI y FcRH5.

106. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades

de la 103 a la 105, donde el segundo antígeno es BCMA.

107. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 103 a la 106, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia

respecto de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

108. El polinucleótido de la forma de modalidad 107, donde la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198.

109. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 103 a la 106, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región variable de la cadena pesada (V_H) que comprende una región determinante de la complementariedad 1

de cadena pesada (CDR-H1), la cual contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 199, 202, 206, 209, 212 y 215; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H2) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 200, 203, 207, 210, 213, y 216; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 201, 204, 205, 208, 211, 214, y 217; y

ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una región 1 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L1) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 218, 221, 224, 227, 230, 233 y 235; (b) una región 2 determinante de complementariedad de cadena ligera (CDR-L2) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de SEQ ID n.° 219, 222, 225, 228, 231, 234 y 236; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L3) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 220, 223, 226, 229 y 232;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene 228 aminoácidos o aproximadamente esta cantidad de longitud o un espaciador

estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

110. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 107-109, donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 201, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 218, 219 y 220, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 202, 203, 204, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 221, 222 y 223, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 205, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 224, 225 y 226, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ

ID n.° 206, 207, 208, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 227, 228 y 229, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 212, 213 y 214, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 233, 234 y 229, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

111. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 107-109, donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-

H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

112. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 107-111, donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID

n.° 189 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 190;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y SEQ ID n.° 192, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 191 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente

este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 193 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o

el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 195 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.°

197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 197 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 198.

113. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 107-112, donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden

las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente.

114. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 107-113, donde el dominio extracelular de unión a antígeno del segundo CAR es un fragmento de anticuerpo de cadena simple.

115. El polinucleótido de la modalidad 114, donde el fragmento de anticuerpo de cadena simple es o comprende un fragmento variable de cadena única (scFv).

116. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 107-115, cuando la región V_H y la región V_L del segundo CAR se unen mediante un aglutinante flexible.

117. El polinucleótido de la modalidad 116, donde el aglutinante del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.° 52).

118. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades

de la 107 a la 117, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L en el segundo CAR.

119. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 107 a la 117, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L en el segundo CAR.

120. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 107 a la 119, donde el dominio de unión a antígeno del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241.

121. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 107 a la 120, donde el dominio de unión a antígeno del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241.

122. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades

107-121, donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente; y/o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente; y/o

el dominio de unión a antígeno extracelular del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el

98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia estipulada en SEQ ID n.° 241.

123. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 104 a la 122, donde el dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende un dominio transmembrana de CD4, CD28 o CD8, opcionalmente, de CD4 humana, CD28 humana o CD8 humana.

124. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 104-123, donde:

el dominio transmembrana del segundo CAR comprende un dominio transmembrana de CD28 humana; y/o

el dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 18 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 18.

125. El polinucleótido de la modalidad 124, donde el

dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 18.

126. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 104-125, donde la región de señalización intracelular del segundo CAR comprende un dominio de señalización intracelular.

127. El polinucleótido de la modalidad 126, en el que el dominio de señalización intracelular del segundo CAR es capaz de inducir una señal de activación primaria en una célula T, es un componente del receptor de células T (TCR) y/o comprende un motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM).

128. El polinucleótido de la forma de modalidad 127, donde el dominio de señalización intracelular del segundo CAR es o comprende un dominio de señalización citoplásmico de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o una fracción de señalización de este, opcionalmente, una cadena CD3 zeta humana.

129. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 126-128, donde la región de señalización intracelular del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el

94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 20.

130. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 126 a la 129, donde la región de señalización intracelular del segundo CAR además comprende una región de señalización co-estimulante.

131. El polinucleótido de la modalidad 130, donde la región de señalización coestimulante del segundo CAR comprende un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulante de células T o una porción de señalización de la misma.

132. El polinucleótido de la forma de modalidad 131, donde la región de señalización co-estimulante del segundo CAR comprende un dominio de señalización intracelular de CD28, 4-1BB o ICOS, o una fracción de señalización de estos, opcionalmente, de CD28 humana, 4-1BB humana o ICOS humana.

133. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 98 o 132, donde la región de señalización co-estimulante comprende un dominio de señalización intracelular de 4-1BB o una fracción de señalización de este, opcionalmente, de 4-1BB humana. 134. El polinucleótido de cualquiera de las

modalidades de la 130 a la 132, donde la región de señalización co-estimulante del segundo CAR comprende:

un dominio de señalización intracelular de CD28 humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 46 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 46.

135. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 130 a la 133, donde la región de señalización co-estimulante comprende:

un dominio de señalización intracelular de 4-1BB humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 19 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o

aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 19.

136. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 104-135, donde el segundo receptor de antígeno quimérico comprende desde su terminal N a C en orden: el dominio de unión a antígeno extracelular, el espaciador, el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

137. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-97, donde la secuencia de nucleótidos que codifican el CAR está enlazada operativamente a un promotor para controlar la expresión del CAR codificado cuando se expresa a partir de una célula introducida con el polinucleótido, opcionalmente en donde el promotor es un promotor heterólogo, opcionalmente en donde el promotor heterólogo es o contiene un factor de elongación 1 alfa (EF1α) humano o un promotor MND o una variante de estos.

138. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 98-136, donde la secuencia de nucleótidos que codifica el primer CAR está enlazada operativamente a un primer promotor para controlar la expresión del primer CAR cuando se expresa a partir de una célula introducida con el polinucleótido y la

secuencia de nucleótidos que codifica el segundo CAR está enlazada operativamente a un segundo promotor para controlar la expresión del segundo CAR cuando se expresa a partir de una célula introducida con el polinucleótido, opcionalmente, donde el primer y el segundo promotor son independientemente un promotor heterólogo, opcionalmente, donde el promotor heterólogo es o comprende un promotor del factor de elongación 1 alfa (EF1α) humano o un promotor MND o una variante de estos.

139. El polinucleótido de la modalidad 138, donde el primer y segundo promotores son el mismo.

140. El polinucleótido de la modalidad 138, donde el primer y segundo promotores son diferentes.

141. Un polinucleótido que comprende:

(i) una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un primer receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende un primer dominio de unión al antígeno; y

(ii) una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende un segundo dominio de unión al antígeno;

donde el primer CAR y el segundo CAR cada uno comprenden lo siguiente: (a) el primer dominio de unión al antígeno o el segundo dominio de unión al antígeno, (b) un espaciador, (c) un dominio transmembrana, y (d) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización

intracelular y una región de señalización co-estimulante;

donde uno o más de (b) hasta (d) en el primer CAR y el mismo o más de (b) hasta (d) en el segundo CAR comprenden la secuencia de aminoácidos idéntica; y

donde las secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de (b) hasta (d) en el primer CAR difieren en secuencia de las secuencias de nucleótidos que codifican el mismo o más de (b) hasta (d) en el segundo CAR.

142. El polinucleótido de la modalidad 141, donde el primer y segundo dominios de unión a antígeno se unen al mismo antígeno.

143. El polinucleótido de la modalidad 141 o de la modalidad 142, donde el primer y el segundo dominios de unión a antígeno se unen a diferentes epítopos del mismo antígeno.

144. El polinucleótido de la modalidad 141, donde el primer y el segundo dominios de unión a antígeno se unen a diferentes antígenos.

145. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-144, donde el primer dominio de unión a antígeno se une a un primer antígeno expresado por o asociado a células de una enfermedad o condición y el segundo dominio de unión a antígeno se une a un segundo antígeno expresado por o asociado a células de la misma enfermedad o condición.

146. El polinucleótido de la modalidad 145, donde la enfermedad o condición es un cáncer.

147. El polinucleótido de la modalidad 146, donde la enfermedad o condición es un cáncer que expresa GPRC5D o un cáncer que expresa BCMA.

148. El polinucleótido de la modalidad 146 o de la modalidad 147, donde el cáncer es una neoplasia maligna de células plasmáticas y la neoplasia maligna de células plasmáticas es un mieloma múltiple (MM) o un plasmacitoma.

149. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 146-148, donde el cáncer es mieloma múltiple.

150. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 146-149, donde el cáncer es mieloma múltiple recidivante/refractario.

151. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-150, donde el primer y segundo dominios de unión a antígeno se unen independientemente a un antígeno seleccionado del grupo que consiste en GPRC5D, BCMA, CD38 CD138, CS-1, BAFF-R, TACI y FcRH5.

152. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-151, donde el primer dominio de unión a antígeno se une al antígeno de maduración de células B (BCMA).

153. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-151, donde el primer dominio de unión a antígeno se une al receptor acoplado a miembro D del grupo 5 de clase C del receptor acoplado a proteínas G humanas (GPRC5D).

154. El polinucleótido de la modalidad 152 o de la

modalidad 153, donde el segundo dominio de unión a antígeno se une a BCMA.

155. El polinucleótido de la modalidad 152 o de la modalidad 153, donde el segundo dominio de unión a antígeno se une a GPRC5D.

156. Un polinucleótido que comprende:

(i) una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un primer receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende un primer dominio de unión al antígeno capaz de unirse a uno de los GPRC5D o BCMA y

(ii) una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende un segundo dominio de unión al antígeno capaz de unirse a los demás GPRC5D o BCMA;

donde el primer CAR y el segundo CAR cada uno comprenden lo siguiente: (a) el primer dominio de unión al antígeno o el segundo dominio de unión al antígeno, (b) un espaciador, (c) un dominio transmembrana, y (d) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización intracelular y una región de señalización co-estimulante;

donde uno o más de (b) hasta (d) en el primer CAR y el mismo o más de (b) hasta (d) en el segundo CAR comprenden la secuencia de aminoácidos idéntica; y

donde las secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de (b) hasta (d) en el primer CAR difieren en secuencia

de las secuencias de nucleótidos que codifican el mismo o más de (b) hasta (d) en el segundo CAR.

157. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-156, donde uno o más de (b) a (d) es uno de (b) a (d) .

158. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-156, donde el uno o más de (b) a (d) es dos de (b) a (d).

159. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-156, donde el uno o más de (b) a (d) es cada uno de (b) a (d).

160. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-159, donde:

la(s) secuencia(s) nucleotídica(s) que codifica(n) una o más de (b) a (d) en el primer CAR y las secuencias de nucleótidos que codifican la misma una o más de (b) a (d) en el segundo CAR comprenden no más de unos 20 pares de bases consecutivos de secuencia homóloga; y/o

la primera secuencia de ácido nucleico que codifica el primer CAR y la segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica el segundo CAR no comprenden más de aproximadamente 20 pares de bases consecutivos de homología de secuencia.

161. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-160, donde:

las secuencias de nucleótidos que codifican una o más de (b) a (d) en el primer CAR y las secuencias de nucleótidos que codifican la misma una o más de (b) a (d) en el segundo

CAR no comprenden más de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 15 pares de bases consecutivos de homología de secuencia; y/o

la primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica el primer CAR y la segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica el segundo CAR no comprenden más de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 15 pares de bases consecutivos de homología de secuencia.

162. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-161, donde:

la(s) secuencia(s) nucleotídica(s) que codifica(n) una o más de (b) a (d) en el primer CAR y las secuencias de nucleótidos que codifican la misma una o más de (b) a (d) en el segundo CAR comprenden no más de unos 10 pares de bases consecutivos de homología; y/o

la primera secuencia de ácido nucleico que codifica el primer CAR y la segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica el segundo CAR no comprenden más de aproximadamente 10 pares de bases consecutivos de homología de secuencia.

163. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-162, en el que el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR y el segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR se separan por una secuencia de nucleótidos que codifica un elemento multicistrónico, opcionalmente donde el elemento multicistrónico es un elemento bicistrónico.

164. El polinucleótido de la modalidad 163, en el que el elemento multicistrónico es un IRES o es una secuencia de omisión de ribosoma o un péptido de autoescisión.

165. El polinucleótido de la modalidad 164, donde el elemento multicistrónico es una secuencia de omisión de ribosoma o un péptido de autoescisión y la secuencia de omisión de ribosoma o el péptido de autoescisión es un elemento de T2A, un P2A, un E2A o un F2A.

166. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-165, donde la primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica el primer CAR está optimizada por codones para su expresión en una célula humana.

167. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-166, donde la segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica el segundo CAR está optimizada en codones para su expresión en una célula humana.

168. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 141-167, donde el polinucleótido está optimizado por codones para la expresión en una célula humana.

169. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-168, donde tras la transcripción del polinucleótido en una célula humana, opcionalmente una célula T humana, el ARNm transcrito, opcionalmente el ARN mensajero, del polinucleótido, exhibe al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% de homogeneidad de ARN.

170. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-169, donde tras la transcripción del primer ácido nucleico que codifica el primer CAR del polinucleótido en una célula humana, opcionalmente una célula T humana, el ARNm transcrito, opcionalmente ARN mensajero, del primer ácido nucleico exhibe al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% de homogeneidad de ARN.

171. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-170, donde tras la transcripción del segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR del polinucleótido en una célula humana, opcionalmente una célula T humana, el ARNm transcrito, opcionalmente ARN mensajero, del segundo ácido nucleico exhibe al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de homogeneidad de ARN.

172. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-171,

donde cualquier sitio donante y/o aceptor de empalme potencial presente en el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR exhibe un puntaje de predicción de empalme de aproximadamente o al menos de menos de 0,70, 0,65, 0,60, 0,55, 0,50, 0,45, 0,40, 0,35, 0,30, 0. 25, 0,20 y/o se predice que están implicados en un evento de empalme con una probabilidad de menos del 70%, menos del 65%, menos del 60%, menos del 55%, menos del 50%, menos del 45%, menos del 40%, menos del 35%, menos del 30%, menos del 25% o menos del 20%.

173. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-172,

donde cualquier sitio de donante o aceptador de empalme potencial en el segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR exhibe un puntaje de predicción de empalme de aproximadamente o al menos o de menos de 0,70, 0,65, 0,60, 0,55, 0,50, 0,45, 0,40, 0,35, 0,30, 0,25, 0. 20 y/o se predice que está implicado en un evento de empalme con una probabilidad de menos del 70%, menos del 65%, menos del 60%, menos del 55%, menos del 50%, menos del 45%, menos del 40%, menos del 35%, menos del 30%, menos del 25% o menos del 20%.

174. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-173, donde cualquier sitio de donante o aceptador de empalme potencial en el polinucleótido exhibe un puntaje de predicción de empalme de aproximadamente o al menos de menos de 0,70, 0,65, 0,60, 0,55, 0,50, 0,45, 0,40, 0,35, 0,30, 0. 25, 0,20 y/o se predice que está implicado en un evento de empalme con una probabilidad de menos del 70%, menos del 65%, menos del 60%, menos del 55%, menos del 50%, menos del 45%, menos del 40%, menos del 35%, menos del 30%, menos del 25% o menos del 20%.

175. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-174, donde el primer y/o segundo dominios de unión a antígeno de (a) es un fragmento de anticuerpo de cadena simple.

176. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-175, donde el primer y/o segundo dominio de unión a antígeno de (a) es o comprende un fragmento variable de cadena simple (scFv)

177. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-176, donde el primer y/o segundo dominios de unión a antígeno de (a) comprende una región variable de cadena pesada (V_H) y una región variable de cadena ligera (V_L).

178. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-177, en el que uno del primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende una CDR-H1 como se establece en SEQ ID n.° 209, una CDR-H2 como se establece en SEQ ID n.°210, y una CDR-H3 como se establece en SEQ ID n.°211 y una región V_L que comprende una CDR-L1 como se establece en SEQ ID n.°230, una CDR-L2 como se establece en SEQ ID n.°231, y una CDR-L3 como se establece en SEQ ID n.°232.

179. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-178, donde uno del primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno comprenden una región V_H y una región V_L que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°197 y 198, respectivamente.

180. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-179, donde uno del primer dominio de unión a antígeno o

el segundo dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 241 o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos el, o aproximadamente el 90%, al menos el, o aproximadamente el 91%, al menos el, o aproximadamente el 92%, al menos el, o aproximadamente el 93%, al menos el, o aproximadamente el 94%, al menos el, o aproximadamente el 95%, al menos el, o aproximadamente el 96%, al menos el, o aproximadamente el 97%, al menos el, o aproximadamente el 98%, al menos el, o aproximadamente el 99% de identidad de secuencia respecto a SEQ ID n.°241.

181. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-180, donde uno del primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende una CDR-H1 como se establece en SEQ ID n.° 125, una CDR-H2 como se establece en SEQ ID n.°126, y una CDR-H3 como se establece en SEQ ID n.°127 y una región V_L que comprende una CDR-L1 como se establece en SEQ ID n.°130, una CDR-L2 como se establece en SEQ ID n.°131, y una CDR-L3 como se establece en SEQ ID n.°132.

182. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-181, donde uno del primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno comprenden una región V_H y una región V_L que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°27 y 28, respectivamente.

183. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-182, donde uno del primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 8 o una secuencia de aminoácidos que exhibe al menos el, o aproximadamente el 90%, al menos el, o aproximadamente el 91%, al menos el, o aproximadamente el 92%, al menos el, o aproximadamente el 93%, al menos el, o aproximadamente el 94%, al menos el, o aproximadamente el 95%, al menos el, o aproximadamente el 96%, al menos el, o aproximadamente el 97%, al menos el, o aproximadamente el 98%, al menos el, o aproximadamente el 99% de identidad de secuencia respecto a SEQ ID n.°8.

184. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-183, donde:

uno del primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno comprende una región V_H que comprende una CDR-H1 como se establece en SEQ ID n.°209, una CDR-H2 como se establece en la SEQ ID n.° 210, y un CDR-H3 como se establece en SEQ ID n.°211 y una región V_L que comprende un CDR-L1 como se establece en SEQ ID n.°230, un CDR-L2 como se establece en SEQ ID n.°231, y un CDR-L3 como se establece en SEQ ID n.°232; y

el otro del primer dominio de unión a antígeno o del segundo dominio de unión a antígeno comprende una CDR-H1 como se establece en la SEQ ID n.°125, una CDR-H2 como se

establece en la SEQ ID n.°126, y una CDR-H3 como se establece en la SEQ ID n.°127 y una región V_L que comprende una CDR-L1 como se establece en la SEQ ID n.°130, una CDR-L2 como se establece en la SEQ ID n.°131, y una CDR-L3 como se establece en la SEQ ID n.°132.

185. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-184, donde:

uno del primer dominio de unión a antígeno o el segundo dominio de unión a antígeno comprenden una región V_H y una región V_L que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°197 y 198, respectivamente; y

el otro del primer dominio de unión a antígeno o del segundo dominio de unión a antígeno comprende una región V_H y una región V_L que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°27 y 28, respectivamente.

186. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-185, donde uno del primer o segundo dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°241 y el otro del primer o segundo dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°8.

187. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-186, donde uno del primer o segundo dominio de unión a antígeno se codifica por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°310.

188. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-187, donde uno del primer o segundo dominio de unión a antígeno está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°264 o SEQ ID n.° 311. 311.

189. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-188, donde el primer o segundo dominio de unión a antígeno está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°310, y el otro del primer o segundo dominio de unión a antígeno está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°311.

190. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-189, donde (b) comprende una porción de una inmunoglobulina.

191. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-190, donde (b) comprende una secuencia de una región bisagra, una región CH2 y CH3.

192. El polinucleótido de la modalidad 191, donde:

la región bisagra comprende toda, o una parte de una región bisagra de IgG4 y/o una región bisagra de IgG2, donde la región bisagra de IgG4 es opcionalmente una región bisagra de IgG4 humana y la región bisagra de IgG2 es opcionalmente una región bisagra de IgG2 humana;

la región C_H2 comprende toda o una parte de una IgG4 C_H2 y/o una IgG2 C_H2, donde la IgG4 C_H2 es opcionalmente una IgG4 C_H2 humana y la IgG2 C_H2 es opcionalmente una IgG2 C_H2 humana;

y/o

la región C_H3 comprende toda o una parte de una IgG4 C_H3 y/o una IgG2 C_H3, donde la IgG4 C_H3 es opcionalmente una IgG4 C_H3 humana y la IgG2 C_H3 es opcionalmente una IgG2 C_H3 humana.

193. El polinucleótido de la modalidad 191 o modalidad 192, donde la región de bisagra, CH2 y CH3 comprende toda o una parte de una bisagra, toda o una parte de una C_H2 y toda o una parte de una IgG4 C_H3 humana.

194. El polinucleótido de la modalidad 191 o la modalidad 193, donde una o más de la región bisagra, la C_H2 y la C_H3 es quimérica y comprende una bisagra, una C_H2 y una C_H3 de IgG4 humana e IgG2 humana.

195. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-194, (b) comprende una región bisagra quimérica de IgG4/2 o una región bisagra de IgG4 modificada, que comprende al menos un reemplazo de aminoácido, en comparación con una bisagra de IgG4 humana; una región de C_H2 quimérica de IgG2/4; y una región de IgG4 C_H3 .

196. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-195, donde (b) tiene una longitud de o de aproximadamente 125 a 300 aminoácidos de longitud, 125 a 250 aminoácidos de longitud, 125 a 230 aminoácidos de longitud, 125 a 200 aminoácidos de longitud, 125 a 180 aminoácidos de longitud, 125 a 150 aminoácidos de longitud, 150 a 300 aminoácidos de longitud, 150 a 250 aminoácidos de longitud, 150 a 230

aminoácidos de longitud, 150 a 200 aminoácidos de longitud, 150 a 200 aminoácidos de longitud, 150 a 180 aminoácidos de longitud, 180 a 300 aminoácidos de longitud, 180 a 250 aminoácidos de longitud, 180 a 230 aminoácidos de longitud, 180 a 200 aminoácidos de longitud, 200 a 300 aminoácidos de longitud, 200 a 250 aminoácidos de longitud, 200 a 230 aminoácidos de longitud, 230 a 300 aminoácidos de longitud, 230 a 250 aminoácidos de longitud, 230 a 250 aminoácidos de longitud o 250 a 300 aminoácidos de longitud, opcionalmente, donde el espaciador es de o de aproximadamente 224, o de aproximadamente 225, o de aproximadamente 226, o de aproximadamente 227, o de aproximadamente 228 o de aproximadamente 229 aminoácidos de longitud, o de aproximadamente 229 aminoácidos de longitud, opcionalmente, donde el espaciador es de o de aproximadamente 224, o de aproximadamente 225, o de aproximadamente 226, o de aproximadamente 227, o de aproximadamente 228 o de aproximadamente 229 aminoácidos de longitud, o de aproximadamente 229 aminoácidos de longitud.

197. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-196, donde (b) es o comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°:

198. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-197, donde (b) en uno del primer CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida

en SEQ ID n.° 48 y (b) en el otro del primer CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 305.

199. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades de la 104 a la 198, (c) es o contiene un dominio transmembrana de CD4, CD28, o CD8, opcionalmente un dominio transmembrana de CD4 humano, CD28 humano o CD8 humano.

200. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-199, donde (c) es o contiene un dominio transmembrana CD28 humano.

201. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-200, donde (c) es o comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 18.

202. El polinucleótido de la modalidad 141-201, donde (c) en uno de los primeros CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 56 y (c) en el otro del primer CAR o segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.°: 307. 307.

203. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-202, en donde el dominio de señalización intracelular de (d) es capaz de inducir una señal de activación primaria en una célula T, es un componente de receptor de células T (TCR) y/o comprende un motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM).

204. El polinucleótido de las modalidades 141-203, donde el dominio de señalización intracelular de (d) es o contiene un dominio de señalización citoplasmática de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o porción de señalización de esta, opcionalmente una cadena zeta CD3 humana).

205. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-204, donde el dominio de señalización intracelular de (d) es o comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 20.

206. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-205, donde el dominio de señalización intracelular de (d) en uno del primer CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 58 y el dominio de señalización intracelular de (d) en el otro del primer CAR o el segundo CAR está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 309.

207. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-206, donde la región de señalización coestimulante de (d) comprende un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulante de células T o una fracción de señalización de la misma.

208. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-206, donde la región de señalización co-estimulante de (d) comprende un dominio de señalización intracelular de

CD28, 4-1BB o ICOS, o una fracción de señalización de estos, opcionalmente, de CD28 humana, 4-1BB humana o ICOS humana.

0209. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-208, donde la región de señalización co-estimulante de (d) comprende un dominio de señalización intracelular de 4-1BB.

210. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-209, donde la región de señalización coestimulante de (d) es o comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 19.

211. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-210, donde la región de señalización coestimulante de (d) en uno del primer CAR o el segundo CAR está codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 60 y la región de señalización coestimulante de (d) en el otro del primer CAR o el segundo CAR está codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 308.

212. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-211, donde:

uno del primer CAR o del segundo CAR comprende (a) un primer dominio de unión a antígeno que se une a GPRC5D, opcionalmente donde el primer dominio de unión a antígeno está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID N.°:311; (b) un espaciador codificado por el nucleótido establecido en SEQ ID N.°: 305, (c) un dominio

transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID N.°:307, y (d) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID N.°:309 y una región de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID N.°:308;

el otro del primer CAR o del segundo CAR comprende (a) un dominio de unión a antígeno que se une a BCMA, opcionalmente en el que el dominio de unión a antígeno está codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID N.°:310, (b) un espaciador codificado por el nucleótido establecido en la SEQ ID N.°: 48, (c) un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID N.°:56, y (d) una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID N.°:58 y una región de dominio de señalización coestimuladora codificada por la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID N.°:60.

213. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-212, donde la primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica el primer CAR está ubicada hacia el extremo 5' del polinucleótido respecto de la segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica el primer CAR.

214. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-213, donde el primer CAR comprende un dominio de unión a antígeno que se une a GPRC5D y el segundo CAR comprende un dominio de unión a antígeno que se une a BCMA.

215. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-213, donde el primer CAR comprende un dominio de unión a antígeno que se une a BCMA y el segundo CAR comprende un dominio de unión a antígeno que se une a GPRC5D.

216. Un polinucleótido que comprende (i) una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un primer receptor de antígenos quiméricos (CAR), (ii) una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico (CAR) y (iii) una secuencia de nucleótidos que codifica un elemento multicistrónico, donde el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR y el segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR se separan por el elemento multicistrónico;

donde el primer CAR comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a GPRC5D, opcionalmente, donde el primer dominio de unión al antígeno está codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 311; un espaciador codificado por el nucleótido estipulado en SEQ ID n.° 305; un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 307; y una región de señalización intracelular que comprende un dominio de

señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 309 y una región de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 308;

donde el segundo CAR comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a BCMA, opcionalmente, donde el segundo dominio de unión al antígeno está codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 310; un espaciador codificado por el nucleótido estipulado en SEQ ID n.° 48; un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 56; y una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 58 y una región del dominio de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 60;

y donde la primera secuencia de ácidos nucleicos que codifica el primer CAR está ubicada hacia el extremo 5’ del polinucleótido respecto de la segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica el segundo CAR.

217. Un polinucleótido que comprende (i) una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un primer receptor de antígenos quiméricos (CAR), (ii) una segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico (CAR) y (iii) una secuencia de nucleótidos que

codifica un elemento multicistrónico, donde el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR y el segundo ácido nucleico que codifica el segundo CAR se separan por el elemento multicistrónico;

donde el primer CAR comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a BCMA, opcionalmente, donde el primer dominio de unión al antígeno está codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 310, un espaciador codificado por el nucleótido estipulado en SEQ ID n.° 48, un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 56, y una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 58 y una región de dominio deseñalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 60

donde el segundo CAR comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a GPRC5D, opcionalmente, donde el segundo dominio de unión al antígeno está codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 311, un espaciador codificado por el nucleótido estipulado en SEQ ID n.° 305, un dominio transmembrana codificado por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 307, y una región de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización intracelular codificado por la secuencia de

nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 309 y una región de señalización coestimulante codificada por la secuencia de nucleótidos estipulada en SEQ ID n.° 308;

donde el primer ácido nucleico que codifica el primer CAR está ubicada hacia el extremo 5’ del polinucleótido respecto de la segunda secuencia de ácidos nucleicos que codifica el segundo CAR.

218. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 163-217, donde el elemento multicistrónico comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 37.

219. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 163-218, en donde el elemento multicistrónico está codificado por una secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID n.° 44 o SEQ ID n.° 45.

220. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-75 y 217-219, que comprende la secuencia de nucleótidos establecida en SEQ ID N.°:299.

221. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-215 y 217-219, donde el polinucleótido codifica la secuencia establecida en SEQ ID n.°298.

222. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-216, 218 y 219, que comprende la secuencia de nucleótidos establecida en la SEQ ID n.°302.

223. El polinucleótido de cualquiera de las modalidades 141-216, 218, 219 y 222, donde el polinucleótido codifica la

secuencia establecida en SEQ ID n.°301.

224. Un vector que comprende el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-223.

225. El vector de la modalidad 224, que es un vector viral.

226. El método de la modalidad 225, en donde el vector viral es un vector lentiviral o un vector retroviral.

227. Una célula que comprende el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-78.

228. La célula de la modalidad 141, donde el receptor de antígeno quimérico es un primer receptor quimérico y la célula comprende además un polinucleótido que comprende un nucleótido que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico.

229. Una célula que comprende el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-223.

230. Una célula que comprende el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-97, que es el primer polinucleótido y donde la célula comprende además un segundo polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un segundo receptor de antígeno quimérico (CAR).

231. La célula de la modalidad 228 o la modalidad 230, donde el segundo receptor de antígeno quimérico (CAR) comprende un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a un segundo antígeno expresado en el

mieloma múltiple o asociado a con mieloma múltiple.

232. La célula de la modalidad 231, donde el segundo CAR además comprende un espaciador, un dominio transmembrana y una región de señalización intracelular.

233. La célula de la modalidad 231 o de la forma de modalidad 232, donde el segundo antígeno se selecciona del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI y FcRH5.

234. La célula de cualquiera de las modalidades 231-233, en donde el antígeno es BCMA.

235. La célula de cualquiera de las modalidades 143--234, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que

comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene 228 aminoácidos o aproximadamente esta cantidad de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

236. La célula de la forma de modalidad 235, donde la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de la secuencia de

aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198.

237. La célula de cualquiera de las modalidades 231-234, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región variable de la cadena pesada (V_H) que comprende una región determinante de la complementariedad 1 de cadena pesada (CDR-H1), la cual contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 199, 202, 206, 209, 212 o 215; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H2) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 200, 203, 207, 210, 213 o 216; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 201, 204, 205, 208, 211, 214 o 217; y

(ii) una región variable de la cadena ligera (V_L) que comprende una región determinante de la complementariedad 1 de cadena ligera (CDR-L1), la cual contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 218, 221, 224, 227, 230, 233 o 235; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L2) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 219, 222,

225, 228, 231, 234 o 236; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L3) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 220, 223, 226, 229 o 232;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

238. La célula de cualquiera de las modalidades 228-237, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 201, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 218, 219 y 220, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 202, 203, 204, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 221, 222

y 223, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 205, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 224, 225 y 226, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 206, 207, 208, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 227, 228 y 229, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 212, 213 y 214, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 233, 234 y 229, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

239. La célula de cualquiera de las modalidades 235-238, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

240. La célula de cualquiera de las modalidades 235-239, en donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente, o (b) una

secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 189 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 190;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y SEQ ID n.° 192, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente

este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 191 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o

el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 193 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 195 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92%

o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°197 y SEQ ID N.°:198, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el o aproximadamente 90%, el o aproximadamente 91%, el o aproximadamente 92%, el o aproximadamente 93%, el o aproximadamente 94%, el o aproximadamente 95%, el o aproximadamente 96%, el o aproximadamente 97%, el o aproximadamente 98%, o el o aproximadamente 99% de identidad de secuencia respecto a SEQ ID n.°197 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el, o aproximadamente 90%, el, o aproximadamente 91%, el, o aproximadamente 92%, el, o aproximadamente 93%, el, o aproximadamente 94%, el, o aproximadamente 95%, el, o aproximadamente 96%, el, o aproximadamente 97%, el, o aproximadamente 98% o el, o aproximadamente 99% de identidad de secuencia respecto a SEQ ID n.°198.

250. La célula de cualquiera de las modalidades 235-249, en donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente.

251. La célula de cualquiera de las modalidades 231-250, donde el dominio extracelular de unión a antígeno del segundo CAR es un fragmento de anticuerpo de cadena simple.

252. La célula de la modalidad 251, donde el fragmento de anticuerpo de cadena simple es o comprende un fragmento variable de cadena única (scFv).

253. La célula de cualquiera de las modalidades 235-252, cuando la región V_H y la región V_L del segundo CAR se unen mediante un aglutinante flexible.

254. La célula de la modalidad 253, donde el aglutinante

del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.° 52).

255. La célula de cualquiera de las modalidades de la 235 a la 254, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L en el segundo CAR.

256. La célula de cualquiera de las modalidades de la 235 a la 254, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L en el segundo CAR.

257. La célula de cualquiera de las modalidades de la 231 a la 256, donde el dominio de unión a antígeno del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241.

258. La célula de cualquiera de las modalidades de la 231 a la 257, donde el dominio de unión a antígeno del

segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241.

259. La célula de cualquiera de las modalidades 235-258, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente; y/o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente; y/o

el dominio de unión a antígeno del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o

aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia estipulada en SEQ ID n.° 241.

260. La célula de cualquiera de las modalidades de la 231 a la 259, donde el dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende un dominio transmembrana de CD4, CD28 o CD8, opcionalmente, de CD4 humana, CD38 humana o CD8 humana.

260. La célula de cualquiera de las modalidades 232-259, en donde:

el dominio transmembrana del segundo CAR comprende un dominio transmembrana de CD28 humana; y/o

el dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 18 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID

n.° 18.

261. La célula de la modalidad 260, donde el dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 18.

262. La célula de cualquiera de las modalidades 232-261, donde la región de señalización intracelular del segundo CAR comprende un dominio de señalización intracelular.

263. La célula de la modalidad 262, en donde el dominio de señalización intracelular es capaz de inducir una señal de activación primaria en una célula T, es un componente de receptor de células T (TCR) y/o comprende un motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM).

264. La célula de la modalidad 262 o la modalidad 263, donde el dominio de señalización intracelular es o comprende un dominio de señalización citoplásmico de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o una fracción de señalización de este, opcionalmente, una cadena CD3 zeta humana.

265. La célula de las modalidades 262-264, donde la región de señalización intracelular comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el

95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 20.

266. La célula de cualquiera de las modalidades de la 262-265, donde la región de señalización intracelular además comprende una región de señalización co-estimulante.

267. La célula de la modalidad 266, en donde la región de señalización coestimulante comprende un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulante de células T o una fracción de señalización de la misma.

268. La célula de la modalidad 266 o la modalidad 267, donde la región de señalización co-estimulante comprende un dominio de señalización intracelular de CD28, 4-1BB o ICOS, o una fracción de señalización de estos, opcionalmente, CD28 humana, 4-1BB humana o ICOS humana.

269. La célula de cualquiera de las modalidades de la 266 a la 268, donde la región de señalización co-estimulante comprende:

un dominio de señalización intracelular de CD28 humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 46 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente

este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 46.

270. La célula de cualquiera de las modalidades de la 266 a la 269, donde la región de señalización co-estimulante comprende:

un dominio de señalización intracelular de 4-1BB humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 19 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 19.

271. La célula de cualquiera de las modalidades 228-270,

donde el segundo receptor de antígeno quimérico comprende desde su terminal N a C en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

272. La célula de cualquiera de las modalidades 227-271, que es un linfocito.

273. La célula de la modalidad 272, que es una célula NK o una célula T.

274. La célula de la modalidad 272 o de la modalidad 273, donde la célula es una célula T y la célula T es una célula T CD4+ o CD8+.

275. La célula de cualquiera de las modalidades 227-274, donde las células es una célula primaria obtenida de un sujeto.

276. La célula de las modalidades 227-275, donde, entre una pluralidad de las células, menos del o aproximadamente 10%, el o aproximadamente 9%, el o aproximadamente 8%, el o aproximadamente 7%, el o aproximadamente 5%, el o aproximadamente 4%, el o aproximadamente 3%, el o aproximadamente 2% o el o aproximadamente 1% de las células en la pluralidad comprenden un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica y/o señalización o actividad independiente de antígeno.

277. Una composición que comprende el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-78.

278. Una composición que comprende la célula de cualquiera de las modalidades 227-277 o una pluralidad de las células de cualquiera de las modalidades 227-277.

279. La composición de la modalidad 278, donde la composición comprende células T CD4+ y CD8+ y la proporción de células T CD4+ a CD8+ es de aproximadamente 1:3 a 3:1, opcionalmente de aproximadamente 1:2 a 2:1.

280. Una composición que comprende:

una pluralidad de primeras células que comprenden un primer receptor de antígeno quimérico que es el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-78 o codificado por el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-97; y

una pluralidad de segundas células que comprenden un segundo receptor de antígeno quimérico.

281. La composición de la modalidad 280, donde, entre una pluralidad de las primeras células, menos del o aproximadamente 10%, el o aproximadamente 9%, el o aproximadamente 8%, el o aproximadamente 7%, el o aproximadamente 5%, el o aproximadamente 4%, el o aproximadamente 3%, el o aproximadamente 2% o el o aproximadamente 1% de las células en la pluralidad comprenden un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica y/o señalización o actividad independiente de antígeno.

282. La composición de la modalidad 280 o la modalidad 281, donde, entre una pluralidad de las segundas células, menos del o aproximadamente 10%, el o aproximadamente 9%, el o aproximadamente 8%, el o aproximadamente 7%, el o aproximadamente 5%, el o aproximadamente 4%, el o aproximadamente 3%, el o aproximadamente 2% o el o aproximadamente 1% de las células en la pluralidad comprenden un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica y/o señalización o actividad independiente de antígeno.

283. La composición de cualquiera de la modalidades 280-282, donde el segundo receptor quimérico comprende un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une un segundo antígeno expresado en el mieloma múltiple o relacionado con el mieloma múltiple.

284. La composición de cualquiera de las modalidades 280-283, donde el segundo CAR comprende el dominio de unión a antígeno extracelular que se une al segundo antígeno, un espaciador, un dominio transmembrana y una región de señalización intracelular.

285. La composición de la modalidad 283 o de la forma de modalidad 284, donde el segundo antígeno se selecciona del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI y FcRH5.

286. La composición de cualquiera de las modalidades

280-285, en donde el antígeno es BCMA.

287. La composición de cualquiera de las modalidades 280-286, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia

respecto de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

288. La composición de la forma de modalidad 287, donde la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196, o 198.

289. La composición de cualquiera de las modalidades 280-286, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región variable de la cadena pesada (V_H) que comprende una región determinante de la complementariedad 1

de cadena pesada (CDR-H1), la cual contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 199, 202, 206, 209, 212 o 215; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H2) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 200, 203, 207, 210, 213 o 216; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 201, 204, 205, 208, 211, 214 o 217; y

(ii) una región variable de la cadena ligera (V_L) que comprende una región determinante de la complementariedad 1 de cadena ligera (CDR-L1), la cual contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 218, 221, 224, 227, 230, 233 o 235; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L2) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 219, 222, 225, 228, 231, 234 o 236; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L3) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 220, 223, 226, 229 o 232;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID

n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

290. La composición de cualquiera de las modalidades 286-289, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 201, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 218, 219 y 220, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 202, 203, 204, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 221, 222 y 223, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 205, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 224, 225 y 226, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ

ID n.° 206, 207, 208, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 227, 228 y 229, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 212, 213 y 214, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 233, 234 y 229, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

291. La composición de cualquiera de las modalidades 286-290, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-

H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

292. La composición de cualquiera de las modalidades 286-291, en donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID

n.° 189 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 190;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y SEQ ID n.° 192, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 191 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente

este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°193 y SEQ ID n.°194, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el o aproximadamente 90%, el o aproximadamente 91%, el o aproximadamente 92%, el o aproximadamente 93%, el o aproximadamente 94%, el o aproximadamente 95%, el o aproximadamente 96%, el o aproximadamente 97%, el o aproximadamente 98%, o el o aproximadamente 99% de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.°193 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el o aproximadamente 90%, el o aproximadamente 91%, el o aproximadamente 92%, el o aproximadamente 93%, el o aproximadamente 94%, el o aproximadamente 95%, el o aproximadamente 96%, el o aproximadamente 97%, el o aproximadamente 98% o el o aproximadamente 99% de identidad de secuencia respecto de SEQ ID N.°:194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196, respectivamente, o (b) una secuencia de

aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 195 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°197 y SEQ ID N.°:198, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el o aproximadamente 90%, el o aproximadamente 91%, el o aproximadamente 92%, el o aproximadamente 93%, el o aproximadamente 94%, el o aproximadamente 95%, el o aproximadamente 96%, el o

aproximadamente 97%, el o aproximadamente 98%, o el o aproximadamente 99% de identidad de secuencia respecto a SEQ ID n.°197 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el, o aproximadamente 90%, el, o aproximadamente 91%, el, o aproximadamente 92%, el, o aproximadamente 93%, el, o aproximadamente 94%, el, o aproximadamente 95%, el, o aproximadamente 96%, el, o aproximadamente 97%, el, o aproximadamente 98% o el, o aproximadamente 99% de identidad de secuencia respecto a SEQ ID n.°198.

293. La composición de cualquiera de las modalidades 286-292, en donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y

SEQ ID n.° 198, respectivamente.

294. La composición de cualquiera de las modalidades 286-293, donde el dominio extracelular de unión a antígeno del segundo CAR es un fragmento de anticuerpo de cadena simple.

295. La composición de la modalidad 294, donde el fragmento de anticuerpo de cadena simple es o comprende un fragmento variable de cadena única (scFv).

296. La composición de cualquiera de las modalidades 286-295, cuando la región V_H y la región V_L del segundo CAR se unen mediante un aglutinante flexible.

297. La composición de la modalidad 296, donde el aglutinante del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.° 52).

298. La composición de cualquiera de las modalidades de la 286 a la 297, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L en el segundo CAR.

299. La composición de cualquiera de las modalidades de la 286 a la 298, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L en el segundo CAR.

300. La composición de cualquiera de las modalidades de la 286 a la 299, donde el dominio de unión a antígeno del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o

aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241.

301. La composición de cualquiera de las modalidades de la 286 a la 300, donde el dominio de unión a antígeno del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241.

302. La composición de cualquiera de las modalidades 286-301, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una

CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente; y/o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente; y/o

el dominio de unión a antígeno del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia estipulada en SEQ ID n.° 241.

303. La composición de cualquiera de las modalidades de la 286 a la 302, donde el dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende un dominio transmembrana de CD4, CD28 o CD8, opcionalmente, de CD4 humana, CD38 humana o CD8 humana.

304. La composición de cualquiera de las modalidades 286-303, en donde:

el dominio transmembrana del segundo CAR comprende un

dominio transmembrana de CD28 humana; y/o

el dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 18 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 18.

305. La composición de la modalidad 304, donde el dominio transmembrana del segundo CAR es o comprende la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 18.

306. La composición de cualquiera de las modalidades 286-305, donde la región de señalización intracelular del segundo CAR comprende un dominio de señalización intracelular.

307. La composición de la modalidad 306, en el que el dominio de señalización intracelular del segundo CAR es capaz de inducir una señal de activación primaria en una célula T, es un componente del receptor de células T (TCR) y/o comprende un motivo de activación de inmunorreceptor basado

en tirosina (ITAM).

308. La composición de la modalidad 306 o la modalidad 307, donde el dominio de señalización intracelular del segundo CAR es o comprende un dominio de señalización citoplásmico de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o una fracción de señalización de este, opcionalmente, una cadena CD3 zeta humana.

309. La composición de cualquiera de las modalidades 306-308, donde la región de señalización intracelular del segundo CAR comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 20.

310. La composición de cualquiera de las modalidades de la 306 a la 309, donde la región de señalización intracelular del segundo CAR además comprende una región de señalización co-estimulante.

311. La composición de la modalidad 310, donde la región

de señalización coestimulante del segundo CAR comprende un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulante de células T o una porción de señalización de la misma.

312. La composición de la modalidad 310 o modalidad 311, donde la región de señalización co-estimulante del segundo CAR comprende un dominio de señalización intracelular de CD28, 4-1BB o ICOS, o una fracción de señalización de estos, opcionalmente, de CD28 humana, 4-1BB humana o ICOS humana.

313. La composición de cualquiera de las modalidades de la 310 a la 312, donde la región de señalización co-estimulante del segundo CAR comprende:

un dominio de señalización intracelular de CD28 humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 46 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 46.

314. La composición de cualquiera de las modalidades 280 o 312, donde la región de señalización co-estimulante comprende un dominio de señalización intracelular de 4-1BB o una fracción de señalización de este, opcionalmente, de 4-1BB humana.

315. La composición de cualquiera de las modalidades de la 310 a la 312, donde la región de señalización co-estimulante del segundo CAR comprende:

un dominio de señalización intracelular de 4-1BB humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 19 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 19.

316. La composición de cualquiera de las modalidades 280-315, donde el segundo receptor de antígeno quimérico codificado comprende desde su terminal N a C en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio

transmembrana y la región de señalización intracelular.

317. La composición de cualquiera de las modalidades 208-316, donde la pluralidad de primeras células comprende células T, opcionalmente en la que las células T comprenden células T CD4+ y CD8+, opcionalmente donde la proporción de células T CD4+ a CD8+ es de aproximadamente 1:3 a 3:1, opcionalmente 1:2 a 2:1.

318. La composición de cualquiera de las modalidades 186-222, donde la pluralidad de segundas células comprende células T, opcionalmente donde las células T comprenden células T CD4+ y CD8+, opcionalmente donde la proporción de células T CD4+ a CD8+ es de aproximadamente 1:3 a 3:1, opcionalmente de aproximadamente 1:2 a 2:1.

319. La composición de cualquiera de las modalidades 280-319, en la cual la composición que comprende la proporción de la primera pluralidad de las células y la segunda pluralidad de las células es de aproximadamente 1:3 a 3:1, opcionalmente aproximadamente 1:2 a 2:1, opcionalmente aproximadamente 1:1.

320. La composición de cualquiera de las modalidades 280-319, en la cual la composición que comprende la primera pluralidad de las células que expresan el primer receptor de antígeno quimérico y la segunda pluralidad de las células que expresan el segundo receptor de antígeno quimérico en una proporción que es de aproximadamente 1:3 a 3:1, opcionalmente

aproximadamente 1:2 a 2:1, opcionalmente aproximadamente 1:1.

321. La composición de cualquiera de las modalidades 277-320, comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

322. La composición de cualquiera de las modalidades 277-321, que es estéril.

323. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente un cáncer, que contiene las células de cualquiera de las modalidades 227-276 como un ingrediente activo.

324. Una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente un cáncer, que contiene la composición de cualquiera de las modalidades 277-322 o 388 como un ingrediente activo.

325. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente un cáncer, que contiene una composición que comprende una primera dosis de una pluralidad de primeras células que comprenden un primer receptor de antígeno quimérico que es el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-67 o codificado por el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 68-79 y una composición que comprende una segunda dosis de una pluralidad de segundas células que comprenden un segundo receptor de antígeno quimérico como un ingrediente activo.

326. Un método de tratamiento que comprende la administración de una composición que comprenda una dosis de las células de cualquiera de las modalidades 79-97 o la composición de cualquiera de las modalidades 280-325 y 388 a un paciente que tenga una enfermedad o trastorno.

327. Uso de las células de cualquiera de las modalidades 227-276 para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente donde la enfermedad o trastorno es un cáncer.

328. Uso de la composición de cualquiera de las modalidades 277-322 o 388 para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente donde la enfermedad o trastorno es un cáncer.

329. El uso de las células de cualquiera de las modalidades 227-276 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente donde la enfermedad o trastorno es un cáncer.

330. El uso de la composición de cualquiera de las modalidades 277-322, o 388 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente donde la enfermedad o trastorno es un cáncer.

331. El método o uso de cualquiera de las formas de modalidad 326-330, o la composición farmacéutica para uso de las modalidades 323-325, donde la dosis de células comprende entre aproximadamente 1.0×10^7 linfocitos T que expresan CAR

y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 1.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 6,5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 1.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 6,5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 1.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 6,0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 6,0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 6,0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 1.25 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 1.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, entre aproximadamente 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, o entre aproximadamente 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, cada uno incluido.

331. El método o uso de cualquiera de las formas de modalidad 326-330, o la composición farmacéutica para uso de las modalidades 323-325, donde la dosis de células comprende 1.5 x 10^7, el o aproximadamente 2.5 x 10^7, el o aproximadamente 5.0 x 10^7, el o aproximadamente 7.5 x 10^7, el o aproximadamente 1.5 x 10^8, el o aproximadamente 2.25 x 10^8, el o aproximadamente 3.0 x 10^8, el o aproximadamente 4.5 x

10^8, el o aproximadamente 6,0 x 10^8, el o aproximadamente 8,0 x 10^8, o el o aproximadamente 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR.

332. Uso de una composición que comprende una primera dosis de una pluralidad de primeras células que comprenden un primer receptor de antígeno quimérico que es el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-67 o codificado por el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 68-79 y una composición que comprende una segunda dosis de una pluralidad de segundas células que comprenden un segundo receptor de antígeno quimérico para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente donde la enfermedad o trastorno es un cáncer.

333. El uso de una composición que comprende una primera dosis de una pluralidad de primeras células que comprenden un primer receptor de antígeno quimérico que es el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-67 o codificado por el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 68-79 y una composición que comprende una segunda dosis de una pluralidad de segundas células que comprenden un segundo receptor de antígeno quimérico para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente donde la enfermedad o trastorno es un cáncer.

334. Un método de tratamiento, que comprende:

administrar una composición que comprende una primera dosis de una pluralidad de primeras células que comprenden un primer receptor de antígeno quimérico que es el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-78 o codificado por el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-97 a un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno; y

administrar al sujeto una segunda dosis de una composición que comprende una pluralidad de segundas células que comprenden un segundo receptor de antígeno quimérico.

335. El método o uso de la forma de la modalidad 334, en el cual la primera dosis de la pluralidad de primeras células y la segunda dosis de la pluralidad de las segundas células comprenden independientemente entre el o aproximadamente 1.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 1.5 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 1.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 6,5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 1.25 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 0.6 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 1.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 6,5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 1.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 6,0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR,

entre el o aproximadamente 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 2.25 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 6.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 6,0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 7.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 2.5 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 1.2 x 10^9 linfocitos T que expresan CAR, entre el o aproximadamente 5.0 x 10^7 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 4.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, o entre el o aproximadamente 1.5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR y el o aproximadamente 3.0 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR, cada uno incluido.

336. El método o uso de cualquiera de las modalidades 334 o 335 o la composición farmacéutica de cualquiera de las modalidades 323-325, donde la composición que comprende la pluralidad de primeras células y la composición que comprende la pluralidad de segundas células se administran simultáneamente, secuencialmente o intermitentemente.

337. El método de cualquiera de las modalidades 334-336, donde la composición que comprende la pluralidad de primeras

células y la composición que comprende la pluralidad de segundas células se administran secuencialmente en cualquier orden.

338. El método de cualquiera de las modalidades 334-337, donde, entre una pluralidad de las primeras células, menos del o aproximadamente 10%, el o aproximadamente 9%, el o aproximadamente 8%, el o aproximadamente 7%, el o aproximadamente 5%, el o aproximadamente 4%, el o aproximadamente 3%, el o aproximadamente 2% o el o aproximadamente 1% de las células en la pluralidad comprenden un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica y/o señalización o actividad independiente de antígeno.

339. El método de cualquiera de las modalidades 334-338, donde, entre una pluralidad de las segundas células, menos del o aproximadamente 10%, el o aproximadamente 9%, el o aproximadamente 8%, el o aproximadamente 7%, el o aproximadamente 5%, el o aproximadamente 4%, el o aproximadamente 3%, el o aproximadamente 2% o el o aproximadamente 1% de las células en la pluralidad comprenden un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica y/o señalización o actividad independiente de antígeno.

340. El método de cualquiera de la modalidades 334-339, donde el segundo receptor quimérico comprende un dominio de

unión a antígeno extracelular que específicamente une un segundo antígeno expresado en el mieloma múltiple o relacionado con el mieloma múltiple.

341. El método de cualquiera de las modalidades 334-339, donde el segundo CAR comprende el dominio de unión a antígeno extracelular que se une al segundo antígeno, un espaciador, un dominio transmembrana y una región de señalización intracelular.

342. El método de la modalidad 340 o de la forma de modalidad 341, donde el segundo antígeno se selecciona del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI y FcRH5.

343. El método de cualquiera de las modalidades 334-342, en donde el antígeno es BCMA.

344. El método de cualquiera de las modalidades 334-343, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o

aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

345. El método de la forma de modalidad 344, donde la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidas

dentro de la región V_H de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198.

346. El método de cualquiera de las modalidades 344 o 345, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región variable de la cadena pesada (V_H) que comprende una región determinante de la complementariedad 1 de cadena pesada (CDR-H1), la cual contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 199, 202, 206, 209, 212 y 215; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H2) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 200, 203, 207, 210, 213, y 216; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 201, 204, 205, 208, 211, 214, y 217; y

ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una región 1 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L1) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 218, 221, 224, 227,

230, 233 y 235; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L2) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 219, 222, 225, 228, 231, 234 y 236; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L3) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 220, 223, 226, 229 y 232;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

347. El método de cualquiera de las modalidades 344-346, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 201, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 218, 219 y 220, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de

SEQ ID n.° 202, 203, 204, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 221, 222 y 223, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 205, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 224, 225 y 226, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 206, 207, 208, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 227, 228 y 229, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 212, 213 y 214, respectivamente, y la región V_L

del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 233, 234 y 229, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

347. El método de cualquiera de las modalidades 344-346, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

348. El método de cualquiera de las modalidades 344-347, en donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 189 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 190;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°191 y SEQ ID n.°192, respectivamente, o (b) una secuencia

de aminoácidos que tiene al menos el o aproximadamente 90%, el o aproximadamente 91%, el o aproximadamente 92%, el o aproximadamente 93%, el o aproximadamente 94%, el o aproximadamente 95%, el o aproximadamente 96%, el o aproximadamente 97%, el o aproximadamente 98%, o el o aproximadamente 99% de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.°191 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el o aproximadamente 90%, el o aproximadamente 91%, el o aproximadamente 92%, el o aproximadamente 93%, el o aproximadamente 94%, el o aproximadamente 95%, el o aproximadamente 96%, el o aproximadamente 97%, el o aproximadamente 98% o el o aproximadamente 99% de identidad de secuencia respecto de SEQ ID N.°:192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 193 y una secuencia de

aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 195 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el

95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID n.°197 y SEQ ID n.°198, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198.

349. El método de cualquiera de las modalidades 344-348, en donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y

SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente.

350. El método de cualquiera de las modalidades 344-349, donde el dominio extracelular de unión a antígeno del

351. El método de la modalidad 350, donde el fragmento de anticuerpo de cadena simple es o comprende un fragmento variable de cadena única (scFv).

352. El método de cualquiera de las modalidades 344-351, cuando la región V_H y la región V_L se unen por un aglutinante flexible.

353. El método de la modalidad 352, donde el aglutinante comprende la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.° 52).

354. El método de cualquiera de las modalidades de la 344 a la 353, donde la región V_H es una terminal amino de la región V_L.

355. El método de cualquiera de las modalidades de la

344-354, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L.

356. El método de cualquiera de las modalidades 344-355, donde el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241.

357. El método de cualquiera de las modalidades 344-356, donde el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240 y 241.

358. El método de cualquiera de las modalidades 344-357, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L

del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente; y/o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente; y/o

el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia estipulada en SEQ ID n.° 241.

359. El método de cualquiera de las modalidades 344-358, donde el dominio transmembrana es o comprende un dominio

transmembrana de CD4, CD28 o CD8, opcionalmente, de CD4 humana, CD38 humana o CD8 humana.

360. El método de cualquiera de las modalidades 344-359, en donde:

el dominio transmembrana comprende un dominio transmembrana de CD28 humana; y/o

el dominio transmembrana es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 18 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 18.

361. El método de la modalidad 360, en donde el dominio transmembrana es o comprende la secuencia estipulada en SEQ ID N.°:18.

362. El método de cualquiera de las modalidades de la 344-361, donde la región de señalización intracelular comprende un dominio de señalización intracelular.

363. El método de la modalidad 362, en donde el dominio

de señalización intracelular es capaz de inducir una señal de activación primaria en una célula T, es un componente de receptor de células T (TCR) y/o comprende un motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM).

364. El método de la modalidad 362 o la modalidad 363, donde el dominio de señalización intracelular es o comprende un dominio de señalización citoplásmico de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o una fracción de señalización de este, opcionalmente, una cadena CD3 zeta humana.

365. El método o uso de cualquiera de las modalidades 362-364, donde la región de señalización intracelular comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID N.°:20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el o aproximadamente el 90%, el o aproximadamente el 91%, el o aproximadamente el 92%, el o aproximadamente el 93%, el o aproximadamente el 94%, el o aproximadamente el 95%, el o aproximadamente el 96%, el o aproximadamente el 97%, el o aproximadamente el 98%, o el o aproximadamente el 99% de identidad de secuencia respecto de SEQ ID N.°:20.

366. El método o uso de cualquiera de las modalidades 362-365, donde la región de señalización intracelular comprende además una región de señalización costimulante.

367. El método o uso de la modalidad 366, en donde la

región de señalización coestimulante comprende un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimulante de células T o una fracción de señalización de la misma.

368. El método de la modalidad 366 o la modalidad 367, donde la región de señalización co-estimulante comprende un dominio de señalización intracelular de CD28, 4-1BB o ICOS, o una fracción de señalización de estos, opcionalmente, CD28 humana, 4-1BB humana o ICOS humana.

369. El método o uso de cualquiera de las modalidades de la 366 a la 368, donde la región de señalización co-estimulante comprende:

un dominio de señalización intracelular de CD28 humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 46 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 46.

370. El método o uso de cualquiera de las modalidades de

la 366 a la 369, donde la región de señalización co-estimulante comprende:

un dominio de señalización intracelular de una 4-1BB humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 19 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 19.

371. El método o uso de cualquiera de las modalidades 344-370, donde el segundo receptor de antígeno quimérico codificado comprende desde su terminación N a C en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, la transmembrana

372. El método o uso de cualquiera de las modalidades 326-371, donde la enfermedad o el trastorno se asocia con la expresión de la GPRC5D.

373. El método o uso de la modalidad 372, donde la enfermedad o trastorno se asocia además con la expresión del antígeno de maduración de células B (BCMA).

374. El método o uso de cualquiera de las modalidades 326-373, donde la enfermedad o trastorno es un trastorno relacionado con las células B.

375. El método de cualquiera de las modalidades 326-374, en el cual la enfermedad o el trastorno asociado con BCMA es una enfermedad o trastorno autoinmunitario.

376. El método de la forma de modalidad 375, en el cual la enfermedad o el trastorno autoinmunitario es el lupus eritematoso sistémico (LES), la nefritis lúpica, la enfermedad inflamatoria intestinal, la artritis reumatoide, la vasculitis asociada al ANCA, la trombocitopenia púrpura idiopática(TPI), la trombocitopenia púrpura trombótica (TPT), la trombocitopenia autoinmunitaria, la enfermedad de Chagas y la enfermedad de Grave, granulomatosis de Wegener, poliarteritis nodosa, síndrome de Sjögren, pénfigo vulgar, esclerodermia, esclerosis múltiple, psoriasis, nefropatía por IgA, polineuropatías por IgM, vasculitis, diabetes mellitus, síndrome de Reynaud, síndrome antifosfolípido, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Kawasaki, anemia hemolítica autoinmune, miastenia grave o glomerulonefritis progresiva.

377. El método de cualquiera de las modalidades 326-376, en el cual la enfermedad o el trastorno es un cáncer.

378. El método de la forma de modalidad 377, en el cual el cáncer es un cáncer que expresa GPRC5D.

379. El método o uso de la forma de modalidad 377 o la

forma de modalidad 378, en el cual el cáncer es una malignidad de células plasmáticas y la malignidad de células plasmáticas es un mieloma múltiple (MM) o plasmacitoma.

380. El método de cualquiera de las modalidades 377-379, en el cual el cáncer es un mieloma múltiple (MM).

381. El método de la forma de modalidad 380, en el cual el cáncer es un mieloma múltiple recidivante/refractario.

382. El método de cualquiera de las modalidades 326-381, donde:

el paciente es refractario a o ha sufrido una recidiva tras la administración de una terapia dirigida al BCMA, opcionalmente tras la administración de los linfocitos T que comprende un CAR que se une específicamente al BCMA; o

el método consiste en seleccionar un paciente para el tratamiento que sea refractario a o que haya sufrido una recidiva tras la administración de una terapia dirigida al BCMA, opcionalmente después de la administración de los linfocitos T que comprende un CAR que se une específicamente al BCMA.

383. El método de cualquiera de las modalidades 326-333 y 335-382, en el cual previo a la administración de la dosis de los linfocitos, el paciente ha recibido anteriormente la administración de una terapia dirigida al BCMA para tratar la enfermedad o el trastorno.

384. El método de cualquiera de las modalidades 334, en

el cual previo de la administración de la segunda dosis de linfocitos, el paciente ha recibido anteriormente la administración de una terapia dirigida al BCMA para tratar la enfermedad o el trastorno.

385. El método de la forma de modalidad 383 o forma de modalidad 383, en el cual la terapia dirigida al BCMA comprende una composición que comprende linfocitos T que comprende un CAR que se une específicamente al BCMA.

386. El método de cualquiera de las modalidades 383-385, en el cual el paciente es refractario a o ha sufrido una recidiva tras la administración de una terapia dirigida al BCMA, opcionalmente después de la administración de los linfocitos T que comprende un CAR que se une específicamente al BCMA.

387. El método de cualquiera de las modalidades 326-386, en el cual el paciente comprende células de mieloma múltiple que presentan pérdida de antígeno o epítopo del BCMA, regulación por disminución del BCMA y/o células tumorales negativas al BCMA después de la administración anterior.

388. La composición de la forma de modalidad 278 o de la forma de modalidad 279, en la cual la composición comprende una pluralidad de células, en la cual al menos una porción de las células comprende el primer CAR que se une específicamente a GPRC5D, una porción de las células

comprende un segundo CAR que se une específicamente a un segundo antígeno que se expresa en o se asocia con el mieloma múltiple, opcionalmente en el que el segundo antígeno es el BCMA, y una porción de las células comprende ambos el primer CAR y el segundo CAR.

389. Una combinación que comprende lo siguiente:

una pluralidad de primeras células que comprenden un primer receptor de antígeno quimérico que es el receptor de antígeno quimérico de cualquiera de las modalidades 1-78 y/o codificado por el polinucleótido de cualquiera de las modalidades 79-97; y

una pluralidad de segundas células que comprenden un segundo receptor de antígeno quimérico.

390. La combinación de la modalidad 389, donde, entre una pluralidad de las primeras células, menos de aproximadamente 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1% de las células en la pluralidad comprenden un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica y/o señalización o actividad independiente de antígeno.

391. La combinación de la modalidad 389 o la modalidad 390, donde, entre una pluralidad de las segundas células, menos del o aproximadamente 10%, el o aproximadamente 9%, el o aproximadamente 8%, el o aproximadamente 7%, el o aproximadamente 5%, el o aproximadamente 4%, el o aproximadamente 3%, el o aproximadamente 2% o el o

aproximadamente 1% de las células en la pluralidad comprenden un receptor de antígeno quimérico que exhibe señalización tónica y/o señalización o actividad independiente de antígeno.

392. La combinación de cualquiera de la modalidades 389-391, donde el segundo receptor quimérico comprende un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une un segundo antígeno expresado en el mieloma múltiple o relacionado con el mieloma múltiple.

393. La combinación de cualquiera de las modalidades 389-391, donde el segundo CAR comprende el dominio de unión a antígeno extracelular que se une al segundo antígeno, un espaciador, un dominio transmembrana y una región de señalización intracelular.

394. La combinación de la forma de modalidad 392 o la modalidad 393, en la cual el segundo antígeno es seleccionado del grupo que consiste en un antígeno de maduración del linfocito B (BCMA), CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI, y FcRH5.

395. La combinación de cualquiera de las modalidades 389-394, en donde el antígeno es BCMA.

396. La combinación de cualquiera de las modalidades 389-395, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos identidad de secuencia del o aproximadamente el 90%, del o aproximadamente el 91%, del o aproximadamente el 92%, del o aproximadamente el 93%, del o aproximadamente el 94%, del o aproximadamente el 95%, del o aproximadamente el 96%, del o aproximadamente el 97%, del o aproximadamente el 98%, o del o aproximadamente el 99% con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 189, 191, 193, 195 o 197; y

(ii) una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos estipulada en cualquiera de SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228

aminoácidos de longitud y/o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

397. La combinación de la forma de modalidad 396, donde la región V_H comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 contenidas dentro de la región V_H de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 189, 191, 193, 195 o 197; y la región V_L comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 contenidas dentro de la región V_L de la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 190, 192, 194, 196 o 198.

398. La combinación de cualquiera de las modalidades 396 o 397, donde el segundo CAR comprende:

(1) un dominio de unión a antígeno extracelular que específicamente une BCMA, donde el dominio de unión a antígeno extracelular comprende:

(i) una cadena pesada variable (V_H) que comprende una región determinante de la complementariedad 1 de cadena pesada (CDR-H1), la cual contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 199, 202, 206, 209, 212, o 215; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H2) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 200, 203, 207, 210, 213, o 216; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR-H3) que comprende la

secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 201, 204, 205, 208, 211, 214, o 217; y

(ii) una región variable de la cadena ligera (V_L) que comprende una región determinante de la complementariedad 1 de cadena ligera (CDR-L1), la cual contiene la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 218, 221, 224, 227, 230, 233, o 235; (b) una región 2 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L2) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 219, 222, 225, 228, 231, 234, o 236; y (c) una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR-L3) que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 220, 223, 226, 229, o 232;

(2) un espaciador, opcionalmente un espaciador que comprende una bisagra quimérica IgG4/2 o una bisagra IgG4 modificada; una región CH2 quimérica IgG2/4; y una región CH3 IgG4, opcionalmente, que tiene aproximadamente 228 aminoácidos de longitud y/o un espaciador estipulados en SEQ ID n.° 17;

(3) un dominio transmembrana; y

(4) una región de señalización intracelular.

399. La combinación de cualquiera de las modalidades 396-398 en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de

SEQ ID n.° 199, 200 y 201, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 218, 219 y 220, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 202, 203, 204, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID n.° 221, 222 y 223, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 199, 200 y 205, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 224, 225 y 226, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 206, 207, 208, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 227, 228 y 229, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L

del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente;

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 212, 213 y 214, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 233, 234 y 229, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

400. La combinación de cualquiera de las modalidades 396-399, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de

SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente.

401. La combinación de cualquiera de las modalidades 396-400, en donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 189 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el

98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 190;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y SEQ ID n.° 192, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 191 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden

(a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 193 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y SEQ ID n.° 196, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92%

o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 195 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden (a) las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente, o (b) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente

este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 197 y una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la SEQ ID n.° 198.

402. La combinación de cualquiera de las modalidades 396-401, en donde:

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 189 y SEQ ID n.° 190, respectivamente;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 191 y SEQ ID n.° 192;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 193 y SEQ ID n.° 194;

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 195 y

SEQ ID n.° 196; o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente.

403. La combinación de cualquiera de las modalidades 396-402, donde el dominio extracelular de unión a antígeno del segundo CAR es un fragmento de anticuerpo de cadena simple.

404. La combinación de la modalidad 403, donde el fragmento de anticuerpo de cadena simple es o comprende un fragmento variable de cadena única (scFv).

405. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 396 a la 404, cuando la región V_H y la región V_L están unidas por un aglutinante flexible.

406. La combinación de la modalidad 340, donde el aglutinante comprende la secuencia de aminoácidos GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID n.° 52).

407. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 396 a la 406, donde la región V_H es una terminal amino de la región V_L.

408. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 396-406, donde la región V_H es una terminal carboxi de la región V_L. 409. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 396-408, donde el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en

SEQ ID n.° 2, 237, 238, 239, 10, 240 o 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.° 227, 238, 239, 240, o 241.

410. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 396-409, donde el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 237, 238, 239, 240, o 241.

411. La combinación de cualquiera de las modalidades 396-410, en donde:

la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 209, 210 y 211, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 230, 231 y 232, respectivamente; o la región V_H del segundo CAR comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que comprenden las

secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 215, 216 y 217, respectivamente, y la región V_L del segundo CAR comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID n.° 235, 236 y 232, respectivamente; y/o

la región V_H y la región V_L del segundo CAR comprenden las secuencias de aminoácidos estipuladas en SEQ ID n.° 197 y SEQ ID n.° 198, respectivamente; y/o

el dominio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 241, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia estipulada en SEQ ID n.° 241.

412. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 396 a la 411, donde el dominio transmembrana es o comprende un dominio transmembrana de CD4, CD28 o CD8, opcionalmente, de CD4 humana, CD38 humana o CD8 humana.

413. La combinación de cualquiera de las modalidades 396-412, en donde:

el dominio transmembrana comprende un dominio transmembrana de una CD28 humana; y/o

el dominio transmembrana es o comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 18 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 18.

414. La combinación de la modalidad 413, en donde el dominio transmembrana es o comprende la secuencia estipulada en SEQ ID N.°:18.

415. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 396-414, donde la región de señalización intracelular comprende un dominio de señalización intracelular.

416. La combinación de la modalidad 415, en donde el dominio de señalización intracelular es capaz de inducir una señal de activación primaria en una célula T, es un componente de receptor de células T (TCR) y/o comprende un motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina

(ITAM).

417. La combinación de la modalidad 415 o la modalidad 416, donde el dominio de señalización intracelular es o comprende un dominio de señalización citoplásmico de una cadena CD3-zeta (CD3ζ) o una variante funcional o una fracción de señalización de este, opcionalmente, una cadena CD3 zeta humana.

418. La combinación de las modalidades 415-417, donde la región de señalización intracelular comprende la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 20 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de SEQ ID n.° 20.

419. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 415-418, donde la región de señalización intracelular además comprende una región de señalización co-estimulante.

420. La combinación de la modalidad 419, en donde la región de señalización coestimulante comprende un dominio de

señalización intracelular de una molécula coestimulante de células T o una fracción de señalización de la misma.

421. La combinación de la modalidad 419 o la modalidad 420, donde la región de señalización co-estimulante comprende un dominio de señalización intracelular de CD28, 4-1BB o ICOS, o una fracción de señalización de estos, opcionalmente, CD28 humana, 4-1BB humana o ICOS humana.

422. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 419 a la 421, donde la región de señalización co-estimulante comprende:

un dominio de señalización intracelular de CD28 humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 46 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 46.

423. La combinación de cualquiera de las modalidades de la 419 a la 422, donde la región de señalización co-

estimulante comprende:

un dominio de señalización intracelular de 4-1BB humana; y/o

la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 19 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% o aproximadamente este porcentaje, el 91% o aproximadamente este porcentaje, el 92% o aproximadamente este porcentaje, el 93% o aproximadamente este porcentaje, el 94% o aproximadamente este porcentaje, el 95% o aproximadamente este porcentaje, el 96% o aproximadamente este porcentaje, el 97% o aproximadamente este porcentaje, el 98% o aproximadamente este porcentaje o el 99% o aproximadamente este porcentaje de identidad de secuencia respecto de la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 19.

424. La combinación de cualquiera de las modalidades 389-423, donde el segundo receptor de antígeno quimérico codificado comprende desde su terminal N a C en orden: el dominio de unión a antígeno, el espaciador, el dominio transmembrana y la región de señalización intracelular.

425. Un kit que comprende la combinación de cualquiera de las modalidades de la 389 a la 424 e indicaciones de uso, opcionalmente, donde las indicaciones son para la administración de una dosis de la primera y de la segunda pluralidad de células, opcionalmente, en concordancia con el método o uso de cualquiera de las modalidades de la 326 a la

387.

426. Un artículo de fabricación que comprende la combinación de cualquiera de las modalidades de la 389 a la 424 o el kit de la forma de modalidad 425.

427. El artículo de fabricación de la forma de modalidad 426, que comprende un primer envase que comprende una dosis de la pluralidad de las primeras células y un segundo envase que comprende una dosis de la pluralidad de las segundas células, opcionalmente, donde el primer y el segundo envase, de forma independiente, son un vial o una bolsa.

428. Uso de la combinación de cualquiera de las modalidades 389-424 para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente donde la enfermedad o trastorno es un cáncer.

429. El uso de la combinación de cualquiera de las modalidades 389-424 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente donde la enfermedad o trastorno es un cáncer.

430. Una composición farmacéutica en el tratamiento de una enfermedad o trastorno, opcionalmente un cáncer, que contiene la combinación de cualquiera de las modalidades 389-424 como un ingrediente activo.

IX EJEMPLOS

[000784] Los siguientes ejemplos se incluyen sólo con propósitos ilustrativos y no se propone que limiten el alcance de la invención.

Ejemplo 1:Expresión del miembro D del grupo 5 de la clase C del receptor acoplado a la proteína G (GPRC5D) en el mieloma múltiple (MM)

D. Expresión de ARNm del GPRC5D

[000785] Para identificar y evaluar los posibles objetivos de superficie celular para la inmunoterapia del mieloma múltiple (MM), se evaluaron las expresiones de ARNm entre >1000 líneas celulares malignas diferentes in silico, incluidas 30 líneas celulares de MM, con la Enciclopedia de Líneas Celulares Cancerígenas (CCLE, por sus siglas en inglés; Barretina et al, Nature. (2012) 483(7391): 603-607). También se explotó la base de datos del proyecto de Expresión del Genotipo Tisular (GTEx, por sus siglas en inglés) (The GTEx Consortium, Nat Genet. (2013) 45(6): 580–585) para evaluar la expresión del ARNm en tipos de tejido primario, no maligno, además de las células tumorales.

[000786] Se utilizó CD138 como marcador de control debido a que CD138 es un marcador de superficie común utilizado para identificar células plasmáticas normales y malignas. CD138 se expresó en altos niveles en las líneas celulares del MM y en líneas celulares de la mayoría de los tipos tumorales, con la expresión media más alta en los tumores del aparato

aerodigestivo superior (**figura** 1A). El ARNm del GPRC5D estuvo altamente expresado en las líneas celulares del MM (n = 30); no obstante, en contraposición con CD138, ningún otro tipo tumoral exhibió una expresión significativa (**figura** 1B).

[000787] El análisis de la expresión en los tipos tisulares normales (no malignos) primarios de datos de la base de datos de Expresión del Genotipo Tisular (GTEx) revelaron una alta expresión de ARNm de CD138 en el esófago, la piel, los pulmones y el hígado, entre otros tejidos (**figura** 2A). Por el contrario, el ARNm del GPRC5D no se expresó altamente en ninguno de los tejidos normales que no fueran la expresión variable en las muestras de piel (**figura** 2B). El análisis de la expresión de ARNm de GTEx en médula ósea humana una expresión de ARNm del GPRC5D 1000 y 500 veces superior en células plasmáticas primarias malignas y normales que en linfocitos B de la sangre periférica, respectivamente (**figura** 2C).

[000788] Para evaluar la relación entre la expresión de ARNm del GPRC5D y los resultados clínicos, se analizaron datos de expresión de secuenciación del ARN con organización de CD138 disponibles públicamente (research.mmrf.org; versión IA13) de 765 pacientes en el ensayo clínico MMRF CoMMpass (NCT0145429). Los pacientes se estratificaron en dos grupos: (1) aquellos con una expresión del GPRC5D por encima de la mediana y (2) aquellos con una expresión del GPRC5D por

debajo de la mediana. La expresión del GPRC5D más alta estuvo significativamente correlacionada con la supervivencia libre de progresión acortada (**figura** 3A). No obstante, la expresión del GPRC5D no estuvo correlacionada con el puntaje del sistema de estadificación internacional (ISS, por sus siglas en inglés) (**figura** 3B; n = 369 por encima del a mediana, 374 por debajo de la mediana) ni cualquiera de las anomalías citogenéticas comunes evaluadas, incluidas la ampliación, la eliminación y las translocaciones de los genes (**figura** 3C-3H; n = 287-291 por encima de la mediana, 280-282 por debajo de la mediana).

E. Expresión de proteína del GPRC5D

1. Ensayo de inmunohistoquímica (IHC)

[000789] Los informes previos que evaluaron la proteína del GPRC5D en células de mieloma múltiple no pudieron identificar la expresión de la superficie celular con análisis por citometría de flujo (Frigyesi, et al. Robust isolation of malignant plasma cells in multiple myeloma. Blood 123, 1336-40 (2014). Estos resultados negativos se confirmaron con diversos reactivos disponibles. En cambio, para evaluar la expresión de proteína del GPRC5D, se realizó un ensayo de inmunohistoquímica (IHC, por sus siglas en inglés) anti-GPRC5D sobre células K562 modificadas para expresar GPRC5D (K562-GPRC5D) y líneas celulares de MM humano (OPM-2 y NCI-H929), que expresan GPRC5D endógeno, con un anticuerpo

monoclonal anti-GPRC5D humano (Abcam, n.° de catálogo ab55044). Se trataron los portaobjetos con un sistema conjugado de anticuerpos con conector de peroxidasa de rábano multimérico y cromógeno 3,3'-diaminobencidina (visto como tinción marrón para visualizar la inmunorreactividad de GPRC5D) y se contratiñeron con hematoxilina. Las células que expresan GPRC5D demostraron una tinción positiva, no se observó tinción en las células progenitoras K562 y se observó la tinción de solamente raras células plasmáticas en el tejido de la amígdala humana primaria. Se utilizó cuantificación de gráfico de cajas de valor atípico mediante análisis de imagen digital (Halo) de la densidad óptica de la membrana (media ± rango intercuartil) sobre las imágenes de IHC de cada línea celular para determinar la concentración del anticuerpo que mostrara el mayor rango (**figura** 4A).

2. Expresión del GPRC5D y del BCMA en el mieloma múltiple (MM)

[000790] La expresión de CD138, BCMA y GPRC5D se cuantificó con inmunofluorescencia cuantitativa (Q-IF, por sus siglas en inglés) múltiple sobre muestras de médula ósea primarias de 83 pacientes con mieloma. Se sometió a una recuperación del antígeno de secciones de 83 muestras de médula ósea fijadas en formalina e incrustadas en parafina de pacientes con mieloma múltiple antes del análisis mediante inmunofluorescencia múltiple con: (1) CD138 de conejo anti-

humano y fluoróforo rodamina 6G, (2) antígeno de maduración de linfocitos B de ratón anti-humano (BCMA, por sus siglas en inglés) y fluoróforo DCC y (3) miembro D del grupo 5 de la familia C del receptor acoplado a la proteína G (GPRC5D) de ratón anti-humano y fluoróforo CY5. Se exploraron secciones completas de muestras de médula ósea teñidas con un explorador de portaobjetos Pannoramic P250 a la exposición fija (3DHISTECH, Perkin Elmer, Waltham, MA). El porcentaje de células positivas se basó en la configuración de un umbral de positividad para cada marcador con la plataforma de análisis de imagen Halo 2.0 (Indica Labs, Corrales, NM). Se contaron las células positivas y negativas. Las células positivas se seleccionaron entre células tumorales CD138+ y el porcentaje positivo se normalizó a células tumorales CD138+. La prevalencia de BCMA y GPRC5D se midió entre las células tumorales CD138+ con una positividad del 1% o más.

[000791] Como se muestra en La **figura** 4B, el 98% de las muestras de médula ósea evaluadas exhibió tinción positiva para GPRC5D en al menos un subconjunto de células CD138+. Entre las muestras, la mayoría de las células CD138+ fueron positivas para BCMA y GPRC5D, pero hubo varias muestras en las que la población predominante de células CD138+ solamente expresó uno de los dos antígenos y no ambos. El porcentaje de muestras donde más del 50% de las células CD138+ también fueron positivas para BCMA, GPRC5D, o BCMA o GPRC5D también

se evaluó entre las 83 muestras de pacientes primarias (**figura** 4C). Específicamente, con un valor de corte de mayor o igual al cincuenta por ciento de la expresión del antígeno en las células CD138+, que se ha utilizado en algunos ensayos de terapia de linfocitos T de CAR dirigida a BCMA (NCT02215967, NCT02658929), se observó que el 65% (54/83) de las muestras tenían expresión de GPRC5D por encima de este nivel, el 73% (61/83) de las muestras cumplían con este umbral para BCMA, mientras que el 88% (73/83) cumplían con este umbral cuando se tenía en cuenta la expresión de BCMA o GPRC5D (**figura** 4C).

[000792] El análisis de correlación de Pearson se utilizó para evaluar la importancia de la correlación entre la expresión de BCMA y GPRC5D con R2 mostrando un ajuste con la línea de regresión. El análisis indicó que la expresión de GPRC5D en las células CD138+ era independiente de la expresión de BCMA (R2 = 0,156; **figura** 4D).

3. Expresión del GPRC5D en tejidos no malignos

[000793] La expresión de proteína del GPRC5D se evaluó sobre tejido normal. Las biopsias centrales de 30 tejidos normales primarios diferentes, cada uno de tres donantes humanos, se evaluaron mediante inmunotinción. De estos, 24 no expresaron proteína del GPRC5D (tejido suprarrenal, de médula ósea, de mamas (n = 5), de cerebro (cerebelo), de cerebro (cerebro), de cerebro (hipófisis), de esófago, de corazón, de hígado, de

pulmón (glándulas no peribronquiales), de células mesoteliales, de ovarios, de nervio periférico, de placenta, de próstata, de glándula salival, de bazo, de músculo esquelético, de testículos, de timo, de tiroides, de amígdalas, de útero y de cuello uterino).

[000794] Para los tipos de tejido que mostraron signos de tinción positiva en la IHC, la tinción se repitió con muestras de primates no humanos (mono cynomolgus; con homología de aminoácidos del 96% respecto del ser humano; reactividad cruzada del anticuerpo), lo que produjo resultados similares. Los resultados de expresión de IHC se confirmaron mediante hibridación in situ del ARN (ISH del ARN) y, en algunos casos, qPCR, sobre tejidos humanos, cynomolgus y murinos (Tabla E1). Entre los tejidos normales de células no plasmáticas, la IHC fue positiva en células incluidas desde el bulbo del folículo capilar y las glándulas peribronquiales, con el bulbo del folículo capilar como el único tejido en el cual la expresión se confirmó mediante hibridación in situ del ARN (ISH) y RCP cuantitativa. La RCP cuantitativa de la piel fue débilmente positiva (Tabla E1), lo que fue coherente con la expresión limitada a un tipo celular raro en la piel.

Tabla E1. Expresión del GPRC5D en tejidos no malignos

		Humano			Mono cynomolgus		Ratón	
Tejido	**Tipos celulares**	**IHC**	**ARN-**	**qPCR**	**IHC**	**ARN-**	**IH**	**ARN-**

			ISH			ISH	C	ISH
Piel	Tallos del pelo	Alto	Alto	Muy débil	Alto	Alto	---	Alto
	Glándulas apocrinas	Moderado-Alto	Negativo	Muy débil	Bajo-Moderado	Negativo	---	NP
Bronquio	Glándulas peribronquiales	Bajo-Alto	Negativo	Negativo	---	---	---	---
Pulmón	Parénquima del pulmón	Negativo	Negativo	---	Negativo	Negativo	---	Negativo
Duodeno	Epitelio intestinal; células inmunitarias	Bajo-Moderado	Negativo	Negativo	---	---	---	---
Lengua	Mastocitos y eosinófilos	---	---	---	Alto	Negativo	---	---
Lecho ungueal	salivales	---	---	---	Moderado-Alto	Negativo	---	---

--- No analizado

NP: no presente en el tejido

Generación y cartografía de epítopos de scFv anti-GPRC5D

A. Generación de scFv anti-GPRC5D

[000795] Se utilizó una biblioteca de muestra de bacteriófagos scFv derivados de linfocitos B humanos para identificar scFv específicos de GPRC5D que unen células que expresan GPRC5D, pero no células que expresan una proteína diferente de GPRC5D. Para generar células que expresan GPRC5D para la detección, se transdujeron de manera estable fibroblastos NIH-3T3 con ADNc de GPRC5D humano mediante un retrovirus para generar antígeno artificial estable que

presenta células (hGPRC5D-aAPCs) para el paneo de la biblioteca de muestras de bacteriófagos. La expresión de GPRC5D en los hGPRC5D-aAPC se confirmó mediante citometría de flujo y se expandió un subclon de alta expresión. La muestra de bacteriófagos se realizó mediante el paneo de una biblioteca de muestra de bacteriófagos del scFv derivados de linfocitos B humanos contra los hGPRC5D-aAPC.

[000796] Luego de la detección de la biblioteca de bacteriófagos, se secuenciaron clones positivos y los clones únicos se sometieron a un segundo paso de validación de unión a las líneas celulares de MM humanas MM.1S y NCI-H929, pero no a la línea celular de leucemia mieloide aguda (LMA) SET2. Se identificaron treinta y dos (32) clones únicos con CDR de cadena ligera y pesada que cubren 5 y 3 subfamilias, respectivamente, y con longitudes de HCDR3 con un rango de 6 a 23 aminoácidos. Se seleccionaron siete clones que exhibieron la unión específica más alta a las células MM.1S y NCI-H929, pero no las líneas celulares negativas para GPRC5D (derivadas de otras neoplasias hematológicas), para el desarrollo en constructos de CAR, como se describe a continuación.

B. Cartografía de epítopos

[000797] Se sintetizó una biblioteca de péptidos 15-mer superpuestos que cubren los dominios extracelulares de GPRC5D y se la unió químicamente a andamios flexibles para evaluar

la unión a epítopos lineal, conformacional y discontinua (mediante unión química de péptidos en andamios) de un subconjunto de los scFv dirigidos a GPRC5D que se generaron antes, mediante métodos basados en ELISA. Los scFv unidos a diversos epítopos, con todos los bucles extracelulares de la proteína transmembrana siete de GPRC5D unida por al menos uno de los scFv identificados (**figura** 5).

Ejemplo 3: Generación de receptores del antígeno quimérico (CAR) anti-GPRC5D y células que expresan CAR anti-GPRC5D

[000798] Se manipularon receptores del antígeno quimérico (CAR), incorporando scFv humano dirigido a GPRC5D de 7 candidatos identificados con anterioridad en distintos formatos estructurales (Tabla E3).

[000799] Se generaron constructos de polinucleótidos que codifican un CAR y codificaron un dominio de unión a antígeno que contiene a cada scFv descrito con anterioridad, en el cual la cadena pesada variable (V_H) y la cadena ligera variable (V_L) estaban conectadas mediante un conector (con residuos estipulados en SEQ ID n.° 52) y en el cual cada scFv se generó para que estuviera en la orientación V_H/V_L y en la orientación V_L/V_H.

[000800] Cada constructo de CAR generado contenía el dominio de unión a antígeno del scFv; uno de tres dominios espaciadores derivados de inmunoglobulina de longitud diferente [corto (solamente la bisagra, 12aa; SEQ ID n.° 15);

medio (bisagra-CH3, 119aa; SEQ ID n.° 16); o largo (bisagra-CH2-CH3, 228aa; SEQ ID n.° 17, codificados mediante la secuencia estipulada en SEQ ID n.° 73), con modificaciones de CH2 para limitar la unión al receptor de Fc]; un dominio transmembrana derivado de CD28 humana (SEQ ID n.° 18); un dominio de señalización intracelular derivada de 4-1BB humana (SEQ ID n.° 19); y un dominio de señalización intracelular derivada de CD3zeta humana (SEQ ID n.° 20).

[000801] La Tabla E3 estipula los componentes y SEQ ID n.° de los constructos de CAR anti-GPRC5D ejemplares generados.

Tabla E3. Componentes de los constructos de CAR de GPRC5D

Constructo de CAR (scFv – espaciador)	**SEQ ID N.°:**							
	scFv						**Región intracelular**	
	aa	**nt**	V_H	V_L	**espaciador**	**TM de CD28**	**4-1BB**	**CD3ζ**
GPRC5D-200 V_H/V_L – corto	1		21	22	15	18	19	20
GPRC5D-200 V_L/V_H – corto	2		21	22	15	18	19	20
GPRC5D-201 V_H/V_L – corto	3		23	24	15	18	19	20
GPRC5D-201 V_L/V_H –	4		23	24	15	18	19	20

Tabla E3. Componentes de los constructos de CAR de GPRC5D								
Constructo de CAR (scFv – espaciador)	**SEQ ID N.°:**							
	scFv						**Región intracelular**	
	aa	**nt**	V_H	V_L	**espaciador**	**TM de CD28**	**4-1BB**	**CD3ζ**
corto								
GPRC5D-202 V_H/V_L – corto	5		25	26	15	18	19	20
GPRC5D-202 V_L/V_H – corto	6		25	26	15	18	19	20
GPRC5D-203 V_H/V_L – corto	7		27	28	15	18	19	20
GPRC5D-203 V_L/V_H – corto	8		27	28	15	18	19	20
GPRC5D-204 V_H/V_L – corto	9		29	30	15	18	19	20
GPRC5D-204 V_L/V_H – corto	10		29	30	15	18	19	20
GPRC5D-205 V_H/V_L – corto	11		31	32	15	18	19	20
GPRC5D-205 V_L/V_H – corto	12		31	32	15	18	19	20
GPRC5D-206 V_H/V_L – corto	13		33	34	15	18	19	20
GPRC5D-206 V_L/V_H – corto	14		33	34	15	18	19	20

Tabla E3. Componentes de los constructos de CAR de GPRC5D								
Constructo de CAR (scFv – espaciador)	**SEQ ID N.°:**							
	scFv						**Región intracelular**	
	aa	**nt**	V_H	V_L	**espaciador**	**TM de CD28**	**4-1BB**	**CD3ζ**
GPRC5D-200 V_H/V_L – medio	1		21	22	16	18	19	20
GPRC5D-200 V_L/V_H – medio	2		21	22	16	18	19	20
GPRC5D-201 V_H/V_L – medio	3		23	24	16	18	19	20
GPRC5D-201 V_L/V_H – medio	4		23	24	16	18	19	20
GPRC5D-202 V_H/V_L – medio	5		25	26	16	18	19	20
GPRC5D-202 V_L/V_H– medio	6		25	26	16	18	19	20
GPRC5D-203 V_H/V_L – medio	7		27	28	16	18	19	20
GPRC5D-203 V_L/V_H – medio	8		27	28	16	18	19	20
GPRC5D-204 V_H/V_L – medio	9		29	30	16	18	19	20
GPRC5D-204 V_L/V_H – medio	10		29	30	16	18	19	20
GPRC5D-205 V_H/V_L –	11		31	32	16	18	19	20

Tabla E3. Componentes de los constructos de CAR de GPRC5D								
Constructo de CAR (scFv – espaciador)	**SEQ ID N.°:**							
	scFv						**Región intracelular**	
	aa	**nt**	V_H	V_L	**espaciador**	**TM de CD28**	**4-1BB**	**CD3ζ**
medio								
GPRC5D-205 V_L/V_H – medio	12		31	32	16	18	19	20
GPRC5D-206 V_H/V_L – medio	13		33	34	16	18	19	20
GPRC5D-206 V_L/V_H – medio	14		33	34	16	18	19	20
GPRC5D-200 V_H/V_L – largo	1	257	21	22	17	18	19	20
GPRC5D-200 V_L/V_H – largo	2	258	21	22	17	18	19	20
GPRC5D-201 V_H/V_L – largo	3	259	23	24	17	18	19	20
GPRC5D-201 V_L/V_H – largo	4	260	23	24	17	18	19	20
GPRC5D-202 V_H/V_L – largo	5	261	25	26	17	18	19	20
GPRC5D-202 V_L/V_H – largo	6	262	25	26	17	18	19	20
GPRC5D-203 V_H/V_L – largo	7	263	27	28	17	18	19	20

Tabla E3. Componentes de los constructos de CAR de GPRC5D								
Constructo de CAR (scFv – espaciador)	**SEQ ID N.°:**							
	scFv						**Región intracelular**	
	aa	**nt**	V_H	V_L	**espaciador**	**TM de CD28**	**4-1BB**	**CD3ζ**
GPRC5D-203 V_L/V_H – largo	8	264	27	28	17	18	19	20
GPRC5D-204 V_H/V_L – largo	9	265	29	30	17	18	19	20
GPRC5D-204 V_L/V_H – largo	10	266	29	30	17	18	19	20
GPRC5D-205 V_H/V_L – largo	11	267	31	32	17	18	19	20
GPRC5D-205 V_L/V_H – largo	12	268	31	32	17	18	19	20
GPRC5D-206 V_H/V_L – largo	13	269	33	34	17	18	19	20
GPRC5D-206 V_L/V_H – largo	14	270	33	34	17	18	19	20

[000802] Los constructos de ácido nucleico que codifican los CAR se generaron como constructos bicistrónicos que además codifican una proteína fluorescente verde (GFP, por sus siglas en inglés) reportera ejemplar, la cual se separó de la secuencia del CAR mediante una secuencia de T2A de auto-

escisión (secuencia estipulada en SEQ ID n.° 44, que codifica la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 37).

[000803] Los constructos de ácido nucleico se clonaron en un vector de expresión lentivírico o un vector de expresión retrovírico para la transducción de las células. Para los constructos lentivíricos, la secuencia de nucleótidos que codifica los CAR anti-GPRC5D con el espaciador más largo se optimizaron con codones y se evaluaron para detectar posibles lugares de empalme y se modificaron de manera conservadora, incluida la eliminación de posibles lugares de empalme predichos. Luego de la optimización con codones para la expresión en células humanas, la secuencia de ADN luego se analizó para detectar lugares de empalme (por ejemplo, herramienta de predicción de lugares de empalme NNSPLICE, versión 0.9; fruitfly.org, Berkeley Drosophila Genome Project, Berkeley, CA). Los lugares de empalme del donante y los lugares de empalme del aceptador se evaluaron de forma independiente. Los lugares de empalme del donante y de empalme del aceptador identificados con un puntaje del lugar del empalme de >0.7 (probabilidad de >70% de un evento de empalme), por ejemplo, en la región del promotor y en la región del espaciador largo) se modificaron mediante mutación silenciosa para reducir el puntaje del lugar de empalme a menos de 0.7. Entre dichas regiones modificadas adicionalmente después de la optimización con codones para la

eliminación del lugar de empalme, se encontraban aquellas dentro de las secuencias de la región del espaciador más largo. Las secuencias de nucleótido de la secuencia de nucleótido modificada que codifica el espaciador largo del CAR se estipula en SEQ ID n.° 74.

[000804] Para la transducción de los linfocitos T humanos primarios, como se describe en los estudios a continuación, los linfocitos T humanos primarios se aislaron de la sangre completa obtenida de donantes sanos o del centro de sangre de Nueva York (Nueva York, NY). Se estimuló a los linfocitos T con fitohemaglutinina (2 mg/mL) o microesferas magnéticas anti-CD3/anti-CD3 en una proporción de 1:1 durante 24 horas, en presencia de IL-2, IL-7 e IL-15 recombinantes. Los linfocitos T se transdujeron mediante inoculación centrífuga con virus en los días 2 a 3 después del inicio de la estimulación, se expandieron y se recolectaron las células, en algunos casos, se criopreservaron y se descongelaron antes del uso. La eficacia de la transducción se determinó mediante análisis de citometría de flujo en los días 4 a 10.

Ejemplo 4: Evaluación de la señalización independiente del antígeno (tónica) de diferentes receptores del antígeno quimérico (CAR) anti-GPRC5D

[000805] Se generó una línea reportera de linfocitos T Jurkat que contenía una reportera de inserción Nur77 mediante integración dirigida a través de la reparación dependiente de

la homología (HDR, por sus siglas en inglés), donde las secuencias de ácido nucleico que codifican la molécula reportera se insertaron en el lugar de Nur77 endógeno. Se tuvo como objetivo una molécula reportera de proteína roja fluorescente (RFP, por sus siglas en inglés) ejemplar mediante HDR para insertarla en un clon de linfocitos T Jurkat E6-1 (ATCC® TIB-152™) hacia abajo dentro del marco del gen Nr4a1 (Nur77) endógeno, antes del codón de detención y después de un elemento de "auto-escisión" T2A (secuencia estipulada en SEQ ID n.° 45, que codifica la secuencia de aminoácidos estipulada en SEQ ID n.° 37), para permitir la co-expresión de RFP como reportera de la expresión de Nur77.

[000806] La línea celular T Jurkat Nur77-RFP se transdujo de forma estable con un constructo bicistrónico que contenía GFP y uno de los 42 distintos constructos de CAR descritos en el Ejemplo 3 más arriba. La línea celular reportera Nur77 se utilizó para evaluar la activación de linfocitos T en células modificadas por CAR, ya que Nur77 es un producto de gen precoz inmediato en los linfocitos T; la transcripción se inicia específicamente hacia abajo de la señalización de CD3 zeta y no se ve afectada por las señales mediadas por citocina o TLR. En este modelo, la señalización tónica se indicó mediante la expresión de RFP en ausencia del estímulo del antígeno de GPRC5D.

[000807] 5×10^5 de cada uno de los linfocitos T Jurkat Nur77-RFP transducidos por CAR se incubaron en ausencia de células que expresan GPRC5D. La transducción de CAR se midió mediante la señal de GFP y la señalización tónica se determinó como el porcentaje de células que expresan GFP (es decir, transducidas por CAR) que expresaron RFP en los días 2, 7 y 11 posteriores a la transducción. La señalización tónica y no tónica detectada de las células GFP+ se resume en las **figura** 6A-6B. Los resultados del ensayo demostraron señalización tónica variada entre los constructos de CAR, con los constructos que incorporan scFv de GPRC5D-203 humanos (V_L/V_H y V_H/V_L) que muestran la señalización tónica más baja. También se observó que determinados constructos de CAR que se asociaron con los niveles más altos de señalización tónica en las células que expresan dichos CAR estaban relacionados con poco crecimiento de la línea celular reportera Jurkat y se excluyeron de la evaluación adicional (GPRC5D-204 V_H/V_L y V_L/V_H con el espaciador corto y GPRC5D-206 V_L/V_H con el espaciador medio).

[000808] Se comparó la señalización independiente del antígeno con la señalización dependiente del antígeno de los constructos de CAR. Los linfocitos T Jurkat Nur77-RFP transducidos por CAR o las células progenitoras no transducidas se incubaron sin la presencia del antígeno o con la presencia de células de mieloma MM.1S que expresan GPRC5D

en una proporción de efector:objetivo (E:T, por sus siglas en inglés) de 1:2. La señal de GFP y RFP se evaluó después de 20 horas como una medida de la transducción del CAR o como una medida de la señalización de linfocitos T, respectivamente. El porcentaje de células Jurkat transducidas por CAR (GFP+) que mostraron la señal de RFP en ausencia del antígeno se graficó en comparación con dichas células que mostraron señal de RFP en presencia del antígeno (**figura** 6C-6E). Los resultados de este ensayo demostraron que la incorporación de un espaciador largo aumentó la señalización mediada por el antígeno a través del CAR, pero era menos probable que indujera la señalización independiente del antígeno (tónica), la cual se observó con los constructos de CAR con espaciadores más cortos.

[000809] La **figura** 6F muestra gráficos de flujo representativos de constructos que expresan CAR anti-GPRC5D ejemplares que contienen el espaciador largo o células progenitoras no transducidas, después de la incubación en ausencia (fila superior de los paneles; señalización tónica independiente del antígeno) o en presencia del antígeno de GPRC5D (células de mieloma MM.1S) (fila inferior de los paneles, señalización dependiente del antígeno). Las células transducidas por CAR se indican a lo largo del eje y como GFP+ y la señalización se indica a lo largo del eje x como RFP+. Los valores que se muestran en el cuadrante superior

derecho de cada panel son el porcentaje de células GFP+ que eran RFP+. De los CAR analizados, GPRC5D-203 V_L/V_H con el espaciador largo tuvo el porcentaje de activación más alto después de la exposición al antígeno, mientras que mantuvo el porcentaje más bajo de señalización tónica.

Ejemplo 5: Especificidad del CAR anti-GPRC5D humano

[000810] El dominio de unión a antígeno de scFv de CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo se analizó para detectar la especificidad de unión y la unión colateral.

A. Ensayo de interacción celular

[000811] El CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo sin los dominios de señalización se analizó para detectar la especificidad de unión entre los receptores acoplados a la proteína G (GPCR, por sus siglas en inglés). El CAR no señalizador se expresó de forma transitoria en células HEK293 con un vector de expresión de superficie celular que incluyó mCherry citoplásmica. En paralelo, el ADNc de los receptores individuales de una biblioteca de GPCR humanas, en una GFP citoplásmica que expresa un vector, se expresó de forma transitoria en las células HEK293. De estas, 202 GPCR aprobaron el control de calidad de >25% de transducción y se seleccionaron para la unión colateral. Se determinó la unión con un ensayo de citometría de flujo automatizado que detecta la interacción celular. El CAR de GPRC5D ejemplar interactuó exclusivamente con GPRC5D en comparación con todas las GPCR

evaluadas (**figura** 7A; umbral preespecificado para la importancia (línea horizontal): Puntaje Z 3; $p<0.0027$).

B. Ensayo de micromatriz celular

[000812] La especificidad de CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo se confirmó en un ensayo de IHC de scFv-Fc. Las poblaciones de células HEK293 individuales, cada una con expresión de una de 4417 proteínas de la membrana plasmática humana, se cultivaron en lugares de micromatriz celular sobre un portaobjetos para microscopio y se detectaron con el scFv anti-GPRC5D-203 V_L/V_H (SEQ ID n.° 8) fusionado a un anticuerpo Fc mIgG2a, un control negativo del isotipo de Fc mIgG2a. Las micromatrices celulares se evaluaron para detectar la unión mediante microscopia fluorescente automatizada con un anticuerpo secundario anti-mIgG2a marcado de forma fluorescente.

[000813] Los resultados indicaron una unión potente a GPRC5D y una posible unión colateral de débil a media a dos proteínas adicionales, protocadherina alfa 1 (PCDH1A) y receptor Fc gamma 2A (CD32a; FCGR2A), una proteína con potencial conocido para la interacción con Fc. Una segunda detección a pequeña escala de células que expresan estas proteínas indicó potencial de unión (**figura** 7B).

C. Activación dependiente del antígeno colateral

[000814] Para evaluar la actividad funcional con base en los efectos colaterales, los posibles aglutinantes colaterales

PCDH1A y FCGR2A se expresaron en células K562 y se co-cultivaron con las células reporteras Jurkat Nur77/RFP transducidas para expresar el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo, con el ensayo que se describe en el Ejemplo 4. Las células K562 que expresan BCMA se utilizaron como un control negativo. Las células se incubaron en proporciones de E:T de 5:1, 1:1 y 1:5. Los porcentajes de células RFP+ de las células transducidas por CAR GFP+ se determinó para cada condición. Como se muestra en la **figura** 7C, solamente el co-cultivo con células K562-GPRC5D dio como resultado la activación de las células reporteras que expresan CAR anti-GPRC5D; el co-cultivo de K562-PCDH1A, K562-FCGR2A o K562-BCMA no activó las reporteras que expresan CAR anti-GPRC5D.

D. Activación dependiente del GPRC5D

[000815] Para determinar de forma adicional si el CAR de GPRC5D 203 V_L/V_H, espaciador largo reconoce específicamente a GPRC5D, se atenuó GPRC5D de las células OPM2 con un sistema CRISPR-Cas9. Brevemente, se eligieron cinco ARN guía (ARNg) de ARN CRISPR (ARNcr) próximos y dentro del exón 1 de GPRC5D (SEQ ID n.° 292-296). Se formaron complejos con los ARNcr y los ARN trans-activadores (ARNtracr) Alt-R CRISP-Cas9 ten una proporción de 1:1 para generar ARNg de dos partes. Los 5 ARNg se agruparon y se incubaron con Cas9 en una proporción de 2:1 para generar complejos de ribonucleoproteína (RNP). Las células OPM2 se electroporaron con RNP de Cas9 dirigida a

GPRC5D. Las células electroporadas se expandieron y clonaron, con los clones expandidos detectados mediante reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para confirmar las eliminaciones en el lugar de GPRC5D.

[000816] Las células progenitoras OPM2 o atenuadas de GPRC5D se cultivaron en una proporción de 1:1 con células Jurkat Nur77RFP (descritas en el Ejemplo 4) que se modificaron para expresar el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo o un CAR anti-BCMA y se incubaron durante 20 horas. La activación del CAR se evaluó mediante la medición de los cambios en la expresión de RFP por citometría de flujo. Como se muestra en la **figura** 7D, la activación de las células reporteras Jurkat Nur77/RFP mediada por el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H después del co-cultivo con células OPM2 se abolió cuando se co-cultivaron en su lugar con células OPM2 en las cuales se atenuó GPRC5D con CRISPR-Cas9.

[000817] Estos resultados revelaron que el CAR anti-GPRC5D-203 (V_L/V_H), espaciador largo específicamente reconoce a GPRC5D.

Ejemplo 6: Actividad in vitro de la terapia de linfocitos T de CAR dirigida a GPRC5D

[000818] Los linfocitos T de CAR que incorporan el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo se analizaron para detectar la actividad funcional con base en la actividad citotóxica y la capacidad de inducir la producción de citocinas en

presencia del antígeno. Para generar linfocitos T que expresan CAR anti-GPRC5D, los linfocitos T se aislaron mediante enriquecimiento basado en inmunoafinidad de muestras de leucocitaféresis de sujetos donantes humanos. Los linfocitos T aislados se activaron y transdujeron con vectores retrovíricos que contienen el constructo polinucleótido que codifica el CAR anti-GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo, como se describe en el Ejemplo 3. Como controles, los linfocitos T del mismo donante también se transdujeron con un CAR que incorpora un scFv anti-BCMA o un scFv anti-CD19 dirigido de manera irrelevante, o se transdujeron de manera simulada.

A. Citotoxicidad

[000819] Se evaluó un panel de varias líneas celulares de mieloma y de células de mieloma primarias para detectar la expresión de ARNm del GPRC5D mediante secuenciación del ARN CCLE para las líneas celulares de MM o secuenciación del ARN Blueprint para las células de MM primarias (**figura** 8A; células de mieloma múltiple primarias que se muestran en el cuadro). Los linfocitos T de CAR se co-cultivaron con líneas celulares MM1.S, OPM2 y RPMI-8226 en un rango de proporciones de efectores a objetivo (E:T) durante 24 horas y se monitoreó la lisis celular. Como se muestra en la **figura** 8B, los linfocitos T que expresan CAR anti-GPRC5D indujeron citotoxicidad en las tres líneas celulares, las normalizadas

respecto de las emparejadas con el donante y los linfocitos T transducidos simulados.

[000820] Los linfocitos T de CAR se co-cultivaron con la línea celular objetivo de MM humano OPM2 (que expresa BCMA endógeno y GPRC5D) modificada para expresar luciferasa de luciérnaga (MM OPM2-ffLuc) en un rango de proporciones de E:T durante 24 horas. La destrucción de las células objetivo se determinó mediante bioluminiscencia dependiente de ATP después de la adición de luciferina y se normalizó para la destrucción en cultivos con células tumorales objetivo solas (N = 3, media ± desv. Est.). Como se muestra en la **figura** 9A, los linfocitos T que expresan CAR anti-GPRC5D indujeron citotoxicidad en un amplio rango de proporciones de efector a objetivo (E:T) del 80% a una proporción de E:T de 0,03:1 al 98% a una proporción de E:T de 1:1. Estos resultados fueron similares al co-cultivo con los linfocitos T de CAR anti-BCMA, con la citotoxicidad de ambos co-cultivos dirigidos al antígeno MM significativamente por encima de la citotoxicidad de fondo observada cuando se co-cultivaron las células de MM OPM2-ffLuc con linfocitos T de CAR anti-CD19 dirigidos de manera irrelevante.

[000821] También se evaluó la citotoxicidad frente a las células primarias mediante el co-cultivo durante la noche, por ejemplo, de 24 a 48 horas, de linfocitos T de CAR con células mononucleares de médula ósea (BMMC, por sus siglas en

inglés) primarias de las aspiraciones de pacientes con MM con varias recidivas en 1:1 de linfocitos T de CAR+:BMMC. La destrucción de las células de MM de aspiración de médula ósea primarias de un donante se evaluó mediante citometría de flujo con base en el porcentaje de BMMC viables que eran CD138+/CD38hi después de la selección sobre células CD3 negativas. Los análisis de citometría de flujo que demuestran la destrucción de las células de MM de aspiración de médula ósea primerias (CD138+/CD38hi) se muestran en la **figura** 9B. El co-cultivo de las células BMMC con linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D o a BCMA, pero no con linfocitos T de CAR dirigidos a CD19 (“dirigidos de manera irrelevante”) del mismo donante, redujeron la destrucción de la fracción de CD138+/CD38hi en >90% (**figura** 9B; cuadro). Para evitar la contribución mediante la expansión de linfocitos T o la eficacia de la transducción, se determinó el porcentaje de BMMC que eran CD138+/CD3-, como se muestra en la **figura** 9C. Los análisis de citometría de flujo de las BMMC co-cultivadas con linfocitos T que incorporan un CAR dirigido a BCMA sin dominios de señalización (“del CAR”) o los scFv dirigidos a BCMA o a GPRC5D indicados de donantes adicionales se muestran en la **figura** 9D. En todos los casos, los linfocitos T de CAR anti-GPRC5D indujeron citotoxicidad significativamente por encima de los linfocitos T con el CAR sin dominio de

señalización ("del CAR") y de manera similar a los linfocitos T de CAR dirigidos a BCMA.

B. Secreción de citocinas

[000822] Los linfocitos T de CAR se co-cultivaron 1:1 con células de MM OPM2 o solos durante 24 horas y se recolectó sobrenadante para el análisis de citocinas mediante ensayo múltiple Luminex®.

[000823] Como se muestra en las **figuras** 10A a 10C, los perfiles de secreción de citocinas después del co-cultivo con la línea celular de MM OPM2 fueron similares entre los linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D o BCMA entre las citocinas evaluadas. De manera notable, los linfocitos T de CAR que se dirigen a cualquier antígeno secretaron un perfil de citocinas polifuncional con los aumentos más grandes de citocinas IFNγ, MIP-1a, TNFα (efector); GM-CSF, IL2 (estimulador); MIP-1b (quimio-atrayente); sCD40L y IL13 (regulador) cuando se los comparó con linfocitos T de CAR de control dirigidos de manera irrelevante dirigidos a CD19 co-cultivados con células OPM2 o linfocitos T de CAR cultivados en ausencia de células objetivo.

Ejemplo 7: Actividad de proliferación y activación de la terapia de linfocitos T de CAR dirigida a GPRC5D

[000824] Los linfocitos T de CAR que incorporan el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo se analizaron para detectar la proliferación y la actividad de activación después del co-

cultivo con células que expresan el antígeno. Para generar linfocitos T que expresan CAR anti-GPRC5D, los linfocitos T se aislaron mediante enriquecimiento basado en inmunoafinidad de muestras de leucocitaféresis de sujetos donantes humanos. Los linfocitos T aislados se activaron y transdujeron con vectores lentivíricos que contienen el constructo polinucleótido que codifica el CAR anti-GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo, como se describe en el Ejemplo 3, excepto que el constructo no incluyó nucleótidos que codifican la etiqueta GFP. Como controles, los linfocitos T del mismo donante también se transdujeron con un CAR que incorpora un scFv anti-BCMA o se transdujeron de manera simulada.

[000825] Los linfocitos T transducidos de manera simulada o los linfocitos T de CAR anti-GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo se cultivaron solos (sin objetivo), con células de leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B (LLA-B) (Nalm6; GPRC5D-) o células de MM (OPM2; GPRC5D+) en una proporción efector (linfocito T):objetivo (línea celular) de 1:1. Los linfocitos T se tiñeron con CellTrace Violet (CTV) antes del co-cultivo y se tiñeron para CD4, CD8 y CD25 después de 72 horas. La proliferación se midió como una dilución de la fluorescencia de CTV en linfocitos T CD4+ y CD8+ y la activación se midió mediante el aumento de la fluorescencia de CD25 (receptor alfa de interleucina 2; IL2RA), lo que indica la elevación de CD25.

[000826] Los datos representativos se estipulan en las **figura** 11A-D, los cuales mostraron que las respuestas fueron similarmente específicas. Los linfocitos T de CAR anti-GPRC5D proliferaron (como lo indicó la dilución de CellTrace Violet en las **figura** 11A y 11B) y elevaron el marcador de activación CD25 en presencia de células OPM2, pero no sobre el co-cultivo con células de LLA-B Nalm6 (como se muestra en las **figura** 11C y 11D). Las células transducidas de manera simulada no respondieron a las células objetivo de MM.

Ejemplo 8:Actividad in vivo de la terapia de linfocitos T de CAR dirigida a GPRC5D

[000827] Un modelo de xenoinjerto de línea celular de mieloma humano OPM2, el cual ocasiona la enfermedad predominante de la médula ósea, se utilizó para evaluar los efectos in vivo de la terapia de linfocitos T de CAR dirigida a GPRC5D. Se inyectó a ratones NOD scid gamma (NSG™) mediante la vena de la cola con 2 × 106 de células OPM2-ffLuc, a las cuales se les permitió que el injerto se incorpore y se expanda durante 14 o 21 días antes de un tratamiento único con una inyección en la vena de la cola de 3 × 106 de linfocitos T de CAR. Los ratones de control no recibieron linfocitos T (“solamente del tumor”) o recibieron linfocitos T procesados de manera simulada del mismo donante (“simulado”). Se utilizó imagen de bioluminiscencia (BLI, por

sus siglas en inglés) de ffLuc para monitorear la carga del tumor.

[000828] Se utilizaron vectores lentivíricos con polinucleótidos que codifican CAR anti-GPRC5D, como se describe en el Ejemplo 3, excepto sin nucleótidos que codifican la etiqueta de GFP, para transducir linfocitos T que se aislaron mediante enriquecimiento basado en inmunoafinidad de muestras de leucocitaféresis de sujetos donantes humanos. Los CAR evaluados incluyeron a uno de tres scFv anti-GPRC5D, scFv de GPRC5D-200 V_L/V_H (SEQ ID n.° 2), scFv de GPRC5D-202 V_H/V_L (SEQ ID n.° 5), o scFv de GPRC5D-203 V_L/V_H (SEQ ID n.° 8); un espaciador largo, un dominio transmembrana derivada de CD28 humana, un dominio co-estimulante de 4-1BB humana y un dominio de señalización intracelular de CD3zeta, como se describe en el Ejemplo 3. Como se muestra en la **figura** 12A, los análisis de FACS revelaron que los distintos vectores de CAR se expresaron de manera similar en la superficie de los linfocitos T, tal como se midió con un anticuerpo específico para el espaciador.

[000829] La supervivencia de los ratones con el tumor a los que se les administró 3 × 106 de linfocitos T de CAR se monitoreó 14 días después de la inyección de OPM2 (8 ratones por constructo de CAR). Como se muestra en la **figura** 12B, el tratamiento con cada uno de los linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D aumentó la supervivencia de los ratones en este

modelo, en comparación con la ausencia del tratamiento o con el tratamiento con linfocitos T transfectados de manera simulada. A los 100 días de la inyección de los linfocitos T de CAR, solamente los ratones tratados con el CAR que incorpora GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo, mantuvieron el 100% de supervivencia.

[000830] Además del modelo de OPM2, se utilizó un modelo de xenoinjerto de la línea celular de mieloma múltiple humano que expresa ARNm bajo de GPRC5D, RPMI-8226, para evaluar los efectos in vivo de la terapia de linfocitos T de CAR dirigida a GPRC5D. Se inyectó por vía subcutánea a los ratones NSG con células RPMI-8226. Cuando los tumores se podían palpar (día 0), se estratificó a los ratones en grupos de tratamiento y control con volúmenes de tumor similares y se los trató con una única inyección intravenosa de 3 × 106 células que expresan GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo. Los ratones de control no recibieron linfocitos T ("solamente del tumor") o recibieron linfocitos T procesados de manera simulada ("simulado"). La eficacia antitumoral precoz se monitoreó mediante el volumen del tumor y la expansión de linfocitos T de CAR se monitoreó mediante citometría de flujo de la sangre periférica en los días 3 y 14. Como se muestra en las **figuras** 12C y 12D, los linfocitos T modificados genéticamente para expresar un CAR dirigido a GPRC5D mediaron actividad

antitumoral y se observó expansión de los linfocitos T de CAR in vivo.

Ejemplo 9: Efectos de distintos dominios co-estimulantes en la actividad in vivo de la terapia de linfocitos T de CAR dirigida a GPRC5D

[000831] Un modelo de xenoinjerto de línea celular de mieloma humano OPM2, el cual ocasiona la enfermedad predominante de la médula ósea, se utilizó para evaluar los efectos in vivo de la terapia de linfocitos T de CAR dirigida a GPRC5D. Se inyectó a ratones NOD scid gamma (NSG™) mediante la vena de la cola con 2 × 106 de células OPM2-ffLuc a las cuales se les permitió que el injerto se incorpore y se expanda durante 14 o 21 días antes de un tratamiento único con una inyección en la vena de la cola de 3 × 106 de linfocitos T de CAR. Los ratones de control no recibieron linfocitos T o recibieron linfocitos T procesados de manera simulada del mismo donante. Se utilizó imagen de bioluminiscencia (BLI, por sus siglas en inglés) de ffLuc para monitorear la carga del tumor.

[000832] Para generar linfocitos T que expresan CAR anti-GPRC5D, se clonaron en vectores retrovíricos constructos de polinucleótidos que codifican CAR, como se describe en el Ejemplo 3, seguidos por nucleótidos que codifican luciferasa gaussiana externa (extGLuc, por sus siglas en inglés) para el seguimiento in vivo, se clonaron en vectores retrovíricos y

se utilizaron para transducir linfocitos T que se aislaron mediante enriquecimiento basado en inmunoafinidad de muestras de leucocitaféresis de sujetos donantes humanos. El CAR evaluado incluyó al scFv de GPRC5D-203 V_L/V_H (SEQ ID n.° 8); un espaciador largo, un dominio transmembrana derivada de CD28 humana, un dominio co-estimulante de 4-1BB humana y un dominio de señalización intracelular de CD3zeta, como se describe en el Ejemplo 3. También se generó un constructo de CAR que incorpora el scFv de GPRC5D-203 V_L/V_H como se describe con anterioridad, excepto en el cual la región de señalización co-estimulante de 4-1BB se sustituyó con una región de señalización co-estimulante de CD28 (SEQ ID n.° 46).

[000833] La supervivencia y el crecimiento del tumor se monitorearon después del tratamiento de ratones con tumor OPM2 con 3 × 106 de linfocitos T de CAR anti-GPRC5D con un dominio de señalización co-estimulante de 4-1BB o un dominio de señalización co-estimulante derivado de CD28 para comparar la actividad de los linfocitos T de CAR con distintas regiones de señalización co-estimulantes. En este ejemplo, se trató a los ratones 21 días después de la inyección de OPM2 para proporcionar una carga del tumor más grande antes del tratamiento y se trató a 5 ratones por constructo de CAR.

[000834] Los linfocitos T de CAR contenían un CAR que incorpora el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo con un

dominio co-estimulante derivado de 4-1BB (designado como GD-41BBz) o con el mismo CAR pero con un dominio de señalización co-estimulante derivado de CD28 (designado como GD-CD28z). También se estudió el tratamiento con linfocitos T de CAR que expresan un CAR dirigido a una proteína irrelevante, CD19, con el espaciador largo y el dominio co-estimulante de CD28 (designado como 19-CD28z) como un control negativo. En este experimento, los vectores de expresión de CAR utilizados para transducir los linfocitos T también incluyeron un gen de luciferasa gaussiana externa (extGLuc) quimérico con un dominio transmembrana de CD8 separado del CAR que codifica la secuencia mediante un elemento P2A. Se pueden tomar imágenes de las células que expresan extGLuc después de la inyección de coelenterazina, un sustrato distinto de la luciferina necesaria para ffLuc BLI, lo que permitió la BLI in vivo de las células tumorales (mediante ffLuc) y de los linfocitos T de CAR (mediante ExtGLuc) en el mismo ratón.

[000835] La supervivencia de los ratones tratados se prolongó de manera similar después del tratamiento con cualquier constructo de CAR anti-GPRC5D, sin importar el dominio de señalización co-estimulante, en comparación con los ratones tratados con linfocitos T de CAR anti-CD19 (**figura** 13A).

[000836] La BLI con luciferina de células tumorales OPM2-ffLuc indicó que los constructos de CAR anti-GPRC5D con

cualquiera de los dominios co-estimulantes erradicaron las células OPM2 entre el día 2 y el día 7 después de la inyección de los linfocitos T de CAR y que la erradicación fue predominantemente duradera (**figura** 13B-D). Por el contrario, el crecimiento del tumor continuó en los ratones después del tratamiento con linfocitos T de CAR anti-CD19. Las muertes de los ratones tratados con linfocitos T de CAR anti-GPRC5D alrededor del día 60 en ausencia de la señal de BLI de OPM2 fueron secundarias a la GvHD xenogénica, un límite conocido, dependiente del donante de la inyección de linfocitos T humanos en ratones NSG (King et al. (2009) Clin. Exp. Immunol. 157:104-118; Covassin et al. (20110 Clin. Exp. Immunol. 166:269-280).

[000837] La capacidad de los linfocitos T de CAR de alojar el MM se evaluó mediante el monitoreo de BLI de coelenterazina de los linfocitos T de CAR que expresaron extGLuc 7 días después del tratamiento con linfocitos T de CAR. Como se muestra en la **figura** 13E, los linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D, con cualquiera de los dominios co-estimulantes, localizados en el lugar del xenoinjerto de MM, se visualizaron después de la inyección de coelenterazina una semana después del tratamiento.

Ejemplo 10: Respuesta de la dosis de la terapia de linfocitos T de CAR anti-GPRC5D y anti-BCMA in vivo en el modelo de mieloma

[000838] En un estudio adicional, las terapias de linfocitos T de CAR anti-GPRC5D y anti-BCMA, con un tratamiento de base de CAR idéntico, se evaluaron en el modelo de xenoinjerto de línea celular de mieloma humano de OPM2. El CAR anti-GPRC5D contenía scFv de GPRC5D-203 V_L/V_H (SEQ ID n.° 8) con un espaciador largo, un dominio transmembrana derivada de CD28 humana, un dominio co-estimulante de 4-1BB humana y un dominio de señalización intracelular de CD3zeta, como se describe en el Ejemplo 3. El CAR anti-BCMA se generó en el mismo tratamiento de base, excepto que contenía un scFv anti-BCMA, en lugar de un scFv anti-GPRC5D. Los constructos de polinucleótido que codifican los CAR se clonaron en un vector lentivírico y se utilizaron para transducir linfocitos T que se aislaron mediante enriquecimiento basado en inmunoafinidad de muestras de leucocitaféresis de un donante humano.

[000839] Se inyectaron aproximadamente 2×10^6 de células OPM2-ffLuc en ratones NOD scid gamma (NSG™) para generar un modelo de xenoinjerto de línea celular de mieloma humano OPM2, esencialmente como se describe en el Ejemplo 7. Catorce (14) días después de la inyección de OPM2, se administró a los ratones una dosis baja (3.3×10^5) o una dosis más alta (1×10^6) de linfocitos T que expresan CAR anti-GPRC5D o linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA (N = 8/condición). Los ratones no tratados y los ratones a los que se les administraron linfocitos T transducidos de manera simulada

también se monitorearon para la comparación (N = 8/condición). Se monitoreó la supervivencia y la carga del tumor (BLI de OPM-ffLuc) cada 3 a 9 días durante hasta 90 días.

[000840] Los linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D fueron similares o mejores que los linfocitos T de CAR dirigidos a BCMA en la inducción de la regresión del tumor (**figura** 14A; triángulos frente a cuadrados, respectivamente) y en la prolongación de la supervivencia (**figura** 14B; triángulos frente a cuadrados) entre ambas dosis en los ratones tratados. Se observó una respuesta de la dosis en la cinética de la regresión del tumor para ambos tipos de terapia de linfocitos T de CAR (**figura** 14A).

Ejemplo 11: Evaluación de los efectos primarios/no tumorales

[000841] Se estudiaron los efectos no tumorales, primarios de la terapia de linfocitos T de CAR dirigida a GPRC5D en sistemas de modelo celular, murino y de primate no humano, en parte debido a que la expresión de GPRC5D detectada en el folículo capilar (véase el Ejemplo 1, Tabla E1).

A. Efectos de células normales esenciales sobre los linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D

[000842] Para evaluar la posible activación de los linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D mediante células normales esenciales, se modificaron genéticamente linfocitos T humanos primarios para expresar el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H,

espaciador largo y se co-cultivaron con un panel de tipos celulares humanos primarios aislados, después de lo cual se midió la liberación de citocina. Mientras que el co-cultivo de los linfocitos T que expresan el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo con células de MM de OPM2 de control positivo ocasionó una liberación sustancial de IFNγ, IL-2 y TNFα, las cantidades de citocinas en los medios después del co-cultivo con cualquiera de los veinte tipos de tejido normal investigados fueron mínimas (**figura** 15A-15C). 15A-15C). Por ejemplo, IFNγ fue 2600 veces superior después del co-cultivo de OPM2 cuando se comparó con el valor más alto después del co-cultivo con células aisladas de tejido normal.

B. Efectos primarios/no tumorales en las células reporteras

[000843] Para estudiar los efectos primarios, no tumorales en ratones y primates no humanos, se identificaron CAR anti-GPRC5D que tenían reactividad cruzada para el GPRC5D murino (mGPRC5D) y/o el GPRC5D cynomolgus (cGPRC5D), los que tienen un 82% y un 96% de homología de aminoácidos respecto del GPRC5D humano (hGPRC5D), respectivamente. Se transdujeron células K562 para expresar cGPRC5D humano (hGPRC5D) o mGPRC5D. La línea reportera de activación Jurkat Nur77-RFP que se describe con anterioridad se transdujo con constructos de polinucleótidos que codifican los CAR descritos en el Ejemplo 3. La activación de CAR se midió como el % de células RFP+ de las células transducidas con CAR GFP+ después del co-

cultivo de cada tipo celular objetivo con cada célula reportera que expresa CAR anti-GPRC5D en una proporción efector:objetivo de 1:1. Las células reporteras también se incubaron con células progenitoras K562 como un control negativo.

[000844] Los resultados se proporcionan en la **figura** 15B para los CAR ejemplares que contienen un espaciador largo y un scFV seleccionados de GPRC5D-200 V_L/V_H, GPRC5D-201 V_L/V_H, GPRC5D-202 V_H/V_L, GPRC5D-203 V_L/V_H, GPRC5D-205 V_L/V_H y GPRC5D-206 V_H/V_L. Las células que expresan un CAR que contiene un scFv de GPRC5D-203 V_L/V_H no tenían reactividad cruzada con mGPRC5D ni cGPRC5D. Las células que expresan un CAR con un scFv de GPRC5D-205 V_L/V_H tenían reactividad cruzada con mGPRC5D y cGPRC5D y con los otros 4 CAR que se muestran en la **figura** 15D, unidos a cGPRC5D. 15D y cGPRC5D.

C. Efectos primarios/no tumorales en un modelo en ratones

[000845] Los linfocitos T de CAR humanos que expresan un CAR que incorpora el mGPRC5D con reactividad cruzada con el CAR de scFv de GPRC5D-205 V_L/V_H, espaciador largo o sin reactividad cruzada con el CAR de scFv de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo, se analizaron en un modelo tumoral murino. Se inyectaron células OPM2-ffLuc en ratones NOD scid gamma (NSG™) para generar un modelo de xenoinjerto de línea celular de mieloma humano OPM2, como se describe con anterioridad. Se inyectó a los ratones con 3 × 106 de linfocitos T de CAR+ 14

días después de la línea celular MM de OPM2. Los controles fueron los no tratados y los tratados con tratamiento con linfocitos T transducidos de manera simulada. Las observaciones clínicas, incluidos la temperatura corporal y el peso, se tomaron a diario durante 13 días y la carga del tumor (evaluada mediante BLI de OPM2) se midió cada 2 a 3 días durante 14 días.

[000846] Los linfocitos T con CAR con reactividad cruzada de GPRC5D-205 V_L/V_H y sin reactividad cruzada de GPRC5D-203 V_L/V_H se toleraron bien, como se observó mediante las curvas de peso y de temperatura corporal que no difirieron significativamente entre los grupos no tratados y los grupos tratados con diferentes linfocitos T de CAR (**figura** 16A y **figura** 16B, respectivamente). Además, las terapias de linfocitos T con CAR con reactividad cruzada de GPRC5D-205 V_L/V_H y sin reactividad cruzada de GPRC5D-203 V_L/V_H mostraron actividad en la reducción de la carga del tumor de OPM2 (**figura** 16C). Además, no se observó pérdida del pelaje ni otro signo evidente de toxicidad para ninguna de las condiciones de tratamiento.

D. Efectos primarios/no tumorales en un modelo en primates no humanos (NHP)

[000847] Los linfocitos T de CAR humanos que expresan un CAR que incorpora el cGPRC5D con reactividad cruzada con el CAR de scFv de GPRC5D-202 V_H/V_L, espaciador largo, se analizaron

en un modelo tumoral de primates. Los linfocitos T se recolectaron y asilaron de tres (3) primates no humanos macho (NHP; monos cynomolgus), designados como 1001, 1002 y 1003, y se transdujeron con retrovirus con polinucleótidos que codifican el CAR de GPRC5D-202 V_H/V_L con reactividad cruzada con cGPRC5D. Como se muestra en la Tabla E11A, la tasa de transducción del CAR en linfocitos T de NHP fue del 36% al 49% de las células CD3+. Después de la transferencia genética, los linfocitos T de NHP se mantuvieron viables (80%-92%). La **figura** 17A proporciona análisis de FAC representativos de la expresión de CAR, según lo medido con base en el receptor truncado co-expresado utilizado como marcador sustituto, el cual se separó de la secuencia de ácidos nucleicos de CAR codificadora mediante un elemento de omisión de ribosomas.

Tabla E11A: Propiedades de las células

Donador	Constructo	Viabilidad	% de TE	% de CD4	% de CD8	% de Tcm	% de Teff	%Cas3 + o AnnV+	Células CAR/tAPC+ caspasa3/kg de dosis proyectadas
1001	CAR	80.1	35.6	44.8	50.4	90.0	7.8	9.4	1.8e7
	tAPC	75.0	44.0	60.8	34.9	86.6	10.7	8.7	5.2e6
1002	CAR	92.1	49.1	48.5	60.5	93.8	3.8	9.2	1.37e7
	tAPC	91.4	54.4	41.3	55.4	95.2	2.7	8.9	1.37e7
1003	CAR	91.2	49.3	41.7	55.4	89.2	7.5	8.1	1.25e7
	tAPC	87.9	47.1	38.2	55.7	90.9	6.2	11.7	1.66e7

Tcm (memoria central T; CD95+CD28+); Teff (memoria efectora

T; CD95+CD28-)

[000848] Se evaluó la actividad citolítica y la producción de citocina de los linfocitos T de NHP en comparación con células que presentan un antígeno diana autólogo (tAPC, por sus siglas en inglés) y células K562-cGPRC5D. Como se muestra en las **figuras** 17B-E, se determinó que los linfocitos T de NHP son funcionales, exhibiendo actividad citolítica (**figura** 17B y D) y liberación de interferón gamma (acercándose a 10.000 pg/mL de sobrenadante después del co-cultivo con células que expresan GPRC5D en una proporción de E:T de 1:1) en respuesta a la exposición al antígeno (**figura** 17C y E).

[000849] Los tres (3) NHP (es decir, 1001, 1002 y 1003, de los cuales se generaron los linfocitos T de CAR más arriba) se pretrataron con ciclofosfamida con acondicionamiento de reducción de linfocitos (40 mg/kg) 2 y 4 días antes de la inyección de linfocitos T de CAR, y luego se les administró 10 × 106 de linfocitos T de cynomolgus autólogos de CAR+ caspasa3-/kg, generados como se describió con anterioridad. Las observaciones clínicas, incluidos la temperatura corporal y el peso, se realizaron cada 2 a 7 días, con el inicio 8 días antes de la inyección de los linfocitos T y con la continuación durante 21 días después de la inyección de los linfocitos T. También se expuso a los tres NHP al irritante cutáneo imiquimod 4 días antes de la inyección de linfocitos T de CAR debido a la inquietud de expresión de los folículos

capilares de GPRC5D para aumentar la sensibilidad para detectar la posible toxicidad. Cuatro días después de la inyección de linfocitos T de CAR, cada NHP recibió 10 × 106 de linfocitos T que presentan antígeno artificial autólogo cGPRC5D+ caspasa-/kg para que actúen como un depósito del antígeno y refuercen la expresión de linfocitos T de CAR. A los 21 días después de la administración de linfocitos T de CAR, se sacrificó a los NHP para el examen macroscópico e histológico.

[000850] Se utilizó RCP para la codificación de ADN del CAR con GPRC5D-202 V_H/V_L para monitorear la persistencia de linfocitos T en el día 21 después de la infusión en la sangre periférica y en la médula ósea. El ARN total se aisló de 2 a 4 rizos (espesor de 20 µm) de gránulos de células FFPE o muestras de tejido y el ADNc se sintetizó con un kit de síntesis de ADN. Se llevó a cabo la RCP con cebadores cuantificados, de la siguiente manera: 0,25 µM cada uno de cebador hacia adelante de GPRC5D (5'-ACTGCATCGAGTCCACTGGAGA-3'; SEQ ID n.° 253) y de cebador inverso (5'-GGATCTTTCGCATGAGGAAGAG-3', SEQ ID n.° 254), y 0,25 µM cada uno de cebador hacia adelante del gen constitutivo de acción β (5'-AGCATCCCCCAAAGTTCAC-3'; SEQ ID n.° 255) y de cebador inverso (5'-AAGGGACTTCCTGTAACAACG-3', SEQ ID n.° 256). Las reacciones de RCP se realizaron en duplicado en placas para RCP de 384 pocillos. Los linfocitos T de NHP transducidos de

CAR se utilizaron como control positivo. Como se muestra en la **figura** 18A, la persistencia de los linfocitos T de CAR posterior a la infusión se detectó en la sangre periférica en 3/3 NHP y en la médula ósea en 2/3 NHP al momento del sacrificio para el examen macroscópico e histológico.

[000851] La terapia de linfocitos T de CAR con GPRC5D-202 V_H/V_L se toleró bien, según lo determinado mediante observación clínica, temperatura corporal (**figura** 18B) y curvas de peso (**figura** 18C, D) que permanecieron estables después del tratamiento con linfocitos T de CAR. Se proporciona un resumen de los hallazgos microscópicos en la Tabla E11B. No se observaron aumentos en IFN-gamma, IL-6 u otras citocinas proinflamatorias ni tampoco cambios relevantes en la química clínica. No se observó pérdida del pelaje ni otro signo clínico de daño en la piel, los pulmones u otros tejidos desde el punto de vista clínico o patológico. En conjunto, estos datos son coherentes con una observación de que la administración de linfocitos T de CAR específicos de GPRC5D en el modelo en NHP no ocasionó toxicidad ni patología tisular evidentes relacionadas con la presencia de los linfocitos T de CAR.

Tabla E11B. Resumen de los hallazgos microscópicos en el día 21

Grupo	**Machos** 1

Cant. de animales examinados	3
Bazo Celularidad aumentada, linfoide, pulpa blanca Leve	 (2)[a] 1001[b], 1002
Ganglio linfático mesentérico Cantidad/tamaño aumentados, folículo linfoide, centro germinal Mínimo Leve	 (3) 1001 1002, 1003
Hígado Fibrosis, focal con macrófagos pigmentados Mínimo Necrosis unicelular, hepatocelular, focal Mínimo	 (2) 1002, 1003 (1) 1002
Pulmón, lóbulo diafragmático izquierdo Émbolo, material nuclear, capilar Mínimo	 (1) 1001

Los grados de gravedad para los cuales no hubo hallazgos se omitieron de la tabla

[a] Los números entre paréntesis representan la cantidad de animales con el hallazgo

[b] Números de identificación del animal

Ejemplo 12: Evaluación de linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D en un modelo de pérdida del antígeno de BCMA murino

[000852] Se generó un modelo murino para el mieloma múltiple negativo para BCMA y se utilizó para evaluar los efectos de los linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D cuando se administraron a los animales del modelo.

[000853] Para generar células tumorales atenuadas de BCMA, se transdujeron células OPM2 que expresan GFP/Luciferasa Cas9 con un lentivirus con ARN de guía única (sgRNA, por sus siglas en inglés) de BCMA. El sgRNA de BCMA, dirigido contra una secuencia diana estipulada en SEQ ID n.° 291, se clonó al plásmido pLentiV2 y, posteriormente, se co-transfirió con plásmidos de empaque (Pax2 y Vsvg) a las células 293T. La transducción se llevó a cabo en presencia de 10 µg/mL de polibrene. Las células transducidas se seleccionaron con 4 µg/mL de puromicina durante 10 días y se colocaron las células únicas en una placa de 96 pocillos. Se expandieron y tiñeron las colonias individuales con anticuerpo anti-BCMA para confirmar la atenuación de BCMA. Se expandieron de manera adicional clones de células OPM2-GL-Cas9 de BCMA atenuadas para realizar experimentos.

[000854] Para modelar la presencia de células tumorales negativas para el antígeno de BCMA en el entorno de mieloma múltiple (lo que posiblemente podría ocasionar la recidiva o la progresión después del tratamiento con un agente dirigido a BCMA), se inyectó a los ratones NSG con una población mixta de OPM2WT sin manipular (aproximadamente el 75%) y $OPM2^{BCMA-KO}$ mediadas por CRISPR de GFP/ffLuc+ (aproximadamente el 25%) (1 × 106 de células OPM2 totales) en el día 0. Se permitió que la población de células OPM2 se incorporara y expandiera durante 7 días. En el día 8, se inyectó a los ratones con 4 ×

106 de linfocitos T de CAR dirigidos a CD19 o BCMA. En el día 16, se inyectó a los ratones a los que previamente se les había inyectado linfocitos T de CAR dirigidos a BCMA con 4 × 106 de linfocitos T que expresan un CAR anti-BCMA o el CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H, espaciador largo.

[000855] Se utilizó BLI para tomar imágenes de los ratones para detectar células OPM2BMCAKO (la población de células que expresan GFP/ffLUC). La toma de imágenes de los ratones en el día 34 reveló que la subpoblación de OPM2 BMCAKO progresó en los ratones que habían recibido inyecciones de linfocitos T de CAR dirigidos a BCMA en los días 8 y 16. En contraste, los ratones que habían recibido linfocitos T de CAR dirigidos a BCMA en el día 8 y linfocitos T de CAR dirigidos a GPRC5D en el día 16 no exhibieron luminiscencia en el día 34 (**figura** 19A y 19B). Los resultados fueron coherentes con un hallazgo de que los linfocitos T de CAR anti-GPRC5D pueden exhibir actividad antitumoral en el mieloma múltiple, incluso en el contexto de que las células tumorales no expresen el antígeno BCMA o no respondan a los linfocitos T de CAR dirigidos a BCMA; los linfocitos T que expresan CAR de GPRC5D-203 V_L/V_H podrían rescatar el escape del tumor.

[000856] El porcentaje de células CD138hi/GFP+ en la médula ósea se analizó mediante citometría de flujo en el día 35 para evaluar la composición de las células OPM2 (hCD138+; WT: GFP-; BCMA-KO: GFP+) en la médula ósea de los ratones en

progresión. La composición de OPM2 (hCD138+) (WT:GFP-; BCMAKO:GFP+) se evaluó a partir de médulas óseas irrigadas de ratones tratados con linfocitos T de CAR dirigidos a CD19, BCMA o GPRC5D (**figura** 20A y B; representativas de 3 ratones/grupo; n = 2 experimentos replicados con resultados similares). Se realizó una selección de vivos y muertos, pero no se muestra. La mayoría de las células de la médula ósea de los ratones que habían recibido una inyección de linfocitos T de CAR dirigidos a BCMA en el día 8 fueron CD138hi/GFP+ (**figura** 20A y B) en el día 35. Los resultados fueron coherentes con la capacidad de los linfocitos T de CAR dirigidos a BCMA de erradicar células OPM2WT, a pesar de la persistencia y/o progresión de la subpoblación $OPM2^{BCMA-KO}$ de las células tumorales.

Ejemplo 13: Generación de composiciones de linfocitos T con ingeniería del receptor de antígeno quimérico (CAR) de doble objetivo dirigidas a GPRC5D y BCMA

[000857] Se generaron composiciones de linfocitos T de doble objetivo en las cuales las composiciones contenían células que expresan receptores del antígeno quimérico (CAR) para el doble objetivo de BCMA y GPRC5D. Se generaron dos composiciones de linfocitos T manipuladas separadas, en las cuales una se manipuló para expresar el CAR anti-BCMA y la otra se manipuló para expresar el CAR anti-GPRC5D y se agruparon las composiciones celulares separadas.

[000858] El CAR anti-BCMA ejemplar contenía un dominio de unión a antígeno scFv capaz de unir células que expresan BCMA (por ejemplo, scFv de BCMA-55, V_L/V_H (SEQ ID n.° 241); una inmunoglobulina bisagra-CH2-CH3 estipulada en SEQ ID n.° 17, codificada mediante la secuencia estipulada en SEQ ID n.°73; un dominio transmembrana derivado de CD28 humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 18); un dominio de señalización intracelular derivada de 4-1BB humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 19); y un dominio de señalización intracelular derivada de CD3zeta humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 20).

[000859] El CAR anti-GPRC5D CAR ejemplificativo contenía dominio de unión de antígenos scFv capaz de unir un GPRC5D (por ejemplo, GPRC5D-203 V_L/V_H scFv (SEQ ID n.°: 8); una inmunoglobulina bisagra-CH2-CH3 estipulada en SEQ ID n.° 17, codificada mediante la secuencia estipulada en SEQ ID n.°73; un dominio transmembrana derivado de CD28 humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 18); un dominio de señalización intracelular derivada de 4-1BB humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 19); y un dominio de señalización intracelular derivada de CD3zeta humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 20).

A. Generación de linfocitos T agrupados que expresan CAR anti-BCMA y los anti-GPRC5D

[000860] Los polinucleótidos que codifican cada CAR individual se vincularon a un elemento de salto ribosómico corriente abajo (tal como una secuencia T2A de autoescisión

(secuencia establecida en SEQ ID n.°:44, por medio de la codificación de la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID n.°: 37) y clonado en un vector de expresión lentivírico. Las composiciones de los linfocitos T se diseñaron por separado para expresar tanto el CAR anti-BCMA como el CAR anti-GPRC5D. Para cada uno de ellos, una línea de linfocitos T de Jurkat Nur77-RFP o linfocitos T primarias aislados por enriquecimiento basado en la inmunoafinidad a partir de muestras de leucaféresis de sujetos humanos donantes fueron transducidas con uno de los vectores lentivíricos que contenían ácido nucleico que codificaba el CAR anti-BCMA o el CAR anti-GPRC5D. Después de la transducción y, en algunos casos, de la expansión, los linfocitos T se tiñeron con un anticuerpo específico para el CAR correspondiente y se analizaron mediante citometría de flujo, mediante la confirmación y transducción de las células y la expresión del CAR.

[000861] Previo a la utilización, los linfocitos T humanos primarios cosechados, transducidos con el CAR anti-BCMA o el CAR anti-GPRC5D, se agruparon en una proporción de 1:1 de células que expresan el CAR anti-BCMA con respecto a las células que expresan el CAR anti-GPRC5D (“células agrupadas αGPRC5D y αBCMA”).

Ejemplo 14: Evaluación del CAR anti-BCMA

[000862] El CAR anti-BCMA ejemplificativo descrito en el ejemplo anterior se evaluó para la señalización (tónica) de antígeno-independiente, así como para la proliferación y activación en presencia de células que expresan y no expresan el BCMA.

A. (Señalización tónica) antígeno-independiente

[000863] La línea celular indicadora del Nur77-RFP descrita en ejemplos anteriores fue transducida con un vector vírico que codifica el CAR anti-CD19 (control), o el CAR anti-BCMA ejemplificativo tal como se describe en el Ejemplo 13, con la excepción de que el marcador sustitutivo para la transducción fue la proteína fluorescente verde superplegada, sfGFP. En este modelo, la señalización tónica se indicó mediante la expresión de la RFP en ausencia de estimulación del antígeno BCMA. Las células que expresan CAR se incubaron sin estimulación de antígeno para evaluar el grado de señalización (tónica) antígeno-independiente durante 3 días y evaluaron para la expresión del RFP mediante citometría de flujo.

[000864] Como se muestra en la **figura** 21A, las células ejemplificativas que expresan CAR anti-BCMA mostraron una baja expresión de RFP en ausencia de estimulación de antígenos, determinada por el porcentaje de células RFP+ (indicativas de activación del indicador tónico) entre las células que expresan CAR (indicadas por células GFP+).

B. Proliferación y activación de linfocitos T-CAR dirigidos contra BCMA

[000865] Se evaluó la actividad citolítica, la liberación de citoquinas y la proliferación tras la incubación de linfocitos T anti-BCMA que expresan CAR anti-BCMA con células que expresan BCMA de diferentes niveles de BCMA. Toda la actividad se evaluó en presencia o ausencia de BCMA soluble.

[000866] Una relación 1:1 de linfocitos T primarios CD4+ y CD8+, cosechados de dos donantes humanos (D#1 y D#2), se estimularon con microesferas de CD3/CD28 y se transdujeron con un vector lentivírico para expresar un CAR BMCA-55 de forma estable. Las células transducidas se cultivaron en presencia de células diana que expresan el BCMA en una relación de células efectoras/diana de 1:3, 1:1 o 3:1. También se simularon los linfocitos T de estirpe celular de los mismos donantes con células diana para su uso como control. Las células diana BCMA+, Daudi, RPMI-8226 y K562-BCMA, mostraron diferentes niveles de densidad de antígenos BCMA en la superficie (densidad de antígenos: Daudi (<1000 moléculas/célula de BCMA) < RPMI-8226 < K562-BCMA) y se tiñeron con éster de carboxifluoresceína succinimidilo (CFSE) antes de la incubación con linfocitos T. También se incluyó un número igual de células diana negativas, que no expresan el BCMA y están teñidas con trazas de violeta (CTV), en los cultivos con linfocitos T y células diana BCMA+. Después de

una incubación de 24 horas, el resto de las células diana BCMA+ vs BCMA- fueron medidas por citometría de flujo, y se evaluó el grado de lisis de la célula diana, indicativo de citotoxicidad.

[000867] Los linfocitos T anti-BCMA que expresan CAR mostraron una actividad citolítica similar cuando se cultivaron con células diana, independientemente de los niveles de expresión del BCMA (**figura** 21B). Además, se observaron resultados similares en células diana (NCI-H929) que expresan más de 100,000 moléculas por célula. Los linfocitos T simulados no mostraron actividad contra ninguna de las líneas de células diana BCMA+. Las células diana negativas para la expresión del BCMA no fueron lisadas por los linfocitos T-CAR anti-BCMA de ninguno de los donantes sometidos a la prueba (no se muestran los datos).

[000868] Se analizó a los sobrenadantes después de la incubación para ver si contenían IFN-γ, TNF-α y citoquinas IL-2 acumuladas. Los datos fueron consistentes con la conclusión de que los linfocitos T-CAR anti-BCMA habían liberado un rango de citoquinas después de la interacción con las células diana que expresan el BCMA; el nivel de citoquinas liberadas generalmente corresponde al nivel creciente de antígeno (es decir, Daudi < RPMI 8226 < K562-BCMA). Los resultados del IFN-γ se muestran en **figura** 21C; se observaron datos similares para TNF-α e IL-2 (datos no

mostrados). Los linfocitos T-CAR anti-BCMA no liberaron citocinas en respuesta a dianas negativas de BCMA, ni tampoco expresaron citocinas sin la presencia de ninguna célula diana, y demostraron especificidad para las células diana BCMA+ y falta de señalización tónica.

[000869] Se evaluó la actividad de los linfocitos T anti-BCMA que expresan CAR en presencia frente a la ausencia del BCMA soluble. Los linfocitos T que expresan el CAR anti-BCMA CAR ejemplificativo se cocultivó con células tumorales RPMI-8226, con BCMA-Fc recombinante, o con sobrenadante de cultivo celular derivado de células de mieloma múltiple NCI-H929 (línea celular secretora de BCMA, el sobrenadante que contiene el BCMA soluble). No se observó que la lisis de células tumorales ni la producción de citocinas se vieran afectadas por ninguna de las concentraciones de BCMA soluble derivada del NCI-H929 (hasta 1000 ng/mL). Tanto la lisis de células tumorales como la producción de citocinas sólo disminuyeron mínimamente a niveles fisiológicos similarmente altos de BCMA recombinante.

[000870] La proliferación en respuesta a la BCMA se midió en linfocitos T anti-BCMA que expresan CAR y en linfocitos T simulados. Los linfocitos T transducidos se etiquetaron con trazas de células violetas (CTV) y se cultivaron en presencia de células diana positivas para BCMA, células diana negativas para el BCMA o sin células, en una relación efector a diana

(E:T) de 1:1 durante 72 horas. La proliferación se midió por citometría de flujo. La proliferación de linfocitos T (linfocitos T CD4+ y CD8+) se observó solo en el caso de los linfocitos T anti-BCMA que expresan CAR en respuesta a la incubación con células diana positivas para BCMA (datos no mostrados).

Ejemplo 15: Evaluación in vitro de composiciones de linfocitos T de ingeniería que contienen células anti-GPRC5D y anti-BCMA que expresan CAR

A. Actividad antígeno-dependiente en presencia de células inactivadas (KO) GPRC5D o anti-BCMA

[000871] Para comprender la especificidad de los CAR anti-BCMA y anti-GPRC5D, se inactivó el GPRC5D o el BCMA de las células OPM2 como se describió anteriormente en los ejemplos 5 y 12, respectivamente. Como se muestra en la **figura** 22A, el análisis de citometría de flujo confirmó una falta de expresión GPRC5D en las células KO OPM2 GPRC5D y una falta de expresión BCMA en las células KO OPM2 BCMA. Las células OPM2 de tipo salvaje (OPM2 WT) sirvieron como control, al mostrar la expresión tanto de GPRC5D como de BCMA.

[000872] Se evaluaron las composiciones celulares de los indicadores de Jurkat Nur77-RFP que contenían células diseñadas para expresar solo el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D) o sólo el CAR anti-BCMA (αBCMA) para determinar la actividad específica del antígeno. Las composiciones de células de

indicadores Nur77-RFP de Jurkat se cocultivaron con células OPM2 WT, OPM2 GPRC5D KO u OPM2 BCMA KO en una relación de 1:1 durante 20 horas. La estimulación específica de antígenos de los CAR expresada por las composiciones celulares se evaluó mediante la medición de los cambios en la expresión del RFP por medio citometría de flujo.

[000873] Como se muestra en la **figura** 22B, no se observó la activación de las células indicadoras Nur77-RFP de Jurkat que expresan solo el CAR GPRC5D-dirigido (αGPRC5D) o solo el CAR BCMA-dirigido (αBCMA) cuando se cocultivaron con células OPM2 en las que el GPRC5D o el BCMA fueron eliminados, respectivamente. Este resultado es consistente con el hallazgo de que los CAR anti-BCMA y anti-GRPC5D son específicos para sus correspondientes antígenos.

Ejemplo 16: Evaluación in vivo de composiciones de células agrupadas de doble diana que contienen células que expresan CAR GPRC5D-dirigidas y BCMA-dirigidas

[000874] Se generaron varios modelos murinos de mieloma múltiple y se utilizaron para evaluar los efectos in vivo de las composiciones de linfocitos T que contenían (1) células diseñadas para expresar solo el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D), (2) células diseñadas para expresar solo el CAR anti-BCMA (αBCMA), o (3) células combinadas que contenían células diseñadas por separado para expresar el CAR anti-BCMA o el CAR anti-GPRC5D combinado a 1:1 relación de células que

expresan CAR anti-BCMA a células que expresan CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D y αBCMA).

A. Expresión de GPRC5D y BCMA por medio de las líneas celulares de mieloma múltiple

[000875] Se evaluaron los niveles relativos de expresión de mRNA y proteínas de GPRC5D y BCMA entre varias líneas celulares de mieloma múltiple antes de la creación de los modelos murinos de mieloma múltiple.

[000876] Los niveles de expresión de ARNm para GPRC5D y BCMA, proporcionados por la enciclopedia de cáncer de líneas celulares (CCLE, por sus siglas en inglés), se determinaron por secuenciación de ARN (RNA-seq) en las siguientes líneas celulares de mieloma múltiple: KMS12BM, RPMI8226, U266B1, MM.1S, OPM2, y NCI-H929. Como se muestra en la **figura** 23, las líneas celulares KMS12BM y RPMI8226 mostraron los niveles más bajos de expresión para ambos genes entre todas las líneas celulares analizadas. La línea celular U266B1 mostró niveles moderados de expresión génica GPRC5D y BCMA, en comparación con las otras líneas celulares. Las líneas celulares MM.1S y OPM2 mostraron altos niveles de expresión génica GPRC5D y niveles moderados de expresión génica BCMA, en comparación con las otras células. Finalmente, el NCI-H929 mostró los niveles más altos de expresión génica para GPRC5D y BCMA entre todas las líneas celulares probadas.

[000877] Como se muestra en la **figura** 24, los niveles de expresión de proteínas para GPRC5D y BCMA fueron analizados de forma complementaria en las siguientes líneas celulares: Células parentales K562, células K562 diseñadas para expresar GPRC5D, KMS12BM, MM.1S, NCI-H929, OPM2, y RPMI8226. 5 x 10^5 células totales fueron coetiquetadas con un anticuerpo anti-BCMA o anti-GPRC5D, y un marcador de viabilidad, y la expresión se determinó por medio de citometría de flujo. En términos de expresión de la proteína GPRC5D, las células K562 diseñadas para expresar el GPRC5D sirvieron como control positivo, y demostraron el nivel más alto de expresión del GPRC5D, mientras que las células K562 parentales que sirvieron como control negativo expresaron niveles insignificantes del GPRC5D. En general de acuerdo con los datos de expresión de ARNm, KMS12BM y RPMI8226 expresaron niveles relativamente bajos de proteína GPRC5D. El NCI-H929 expresó un nivel moderado, mientras que MM.1S y OPM-2 expresaron niveles relativamente altos de proteína GPRC5D. En términos de expresión de la proteína BCMA, KMS12BM, MM1S y RPMI8226 expresaron niveles bajos a moderados de proteína BCMA, mientras que OPM-2 expresaron un alto nivel de proteína BCMA. Aun así, las células NCI-H929 expresaron el nivel más alto de proteína BCMA.

[000878] Tomados en conjunto, los resultados son consistentes con el hallazgo de que la línea celular RPMI8226

exhibe una expresión GPRC5D relativamente baja, mientras que la línea celular OPM2 exhibe una expresión de GPRC5D relativamente alta.

B. Evaluación de composiciones de linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA y anti-GPRC5D en un modelo de xenoinjerto murino de células OPM2

[000879] Las composiciones dobles de linfocitos T humanos primarios BCMA-dirigidos y GPRC5D-dirigidos que contengan (1) células que expresen solo el CAR anti-GPRC5D, (2) células que expresen el CAR anti-BCMA, o (3) células agrupadas diseñadas por separado para expresar el CAR anti-BCMA o el CAR anti-GPRC5D, agrupados en una relación 1:1 de células que expresen CAR anti-BCMA en células que expresen CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D y αBCMA) en un modelo de tumor murino con tumores que expresan uno o ambos de los antígenos diana.

[000880] Para generar el modelo tumoral, las células GPRC5D y BCMA se inactivaron por separado en las células OPM2-rFLuc como se describe en los ejemplos 5 y 12 para generar líneas celulares GPRC5D y BCMA OPM2 de una solo inactivación ("OPM2 GPRC5D KO" y "OPM2 BCMA KO," respectivamente). Como control, las células OPM2-rFLuc que expresan tanto GPRC5D como BCMA (OPM2 WT) se compararon con las líneas simples de inactivación. Se inyectó gamma ácido NOD (NSG™) con 2 x 10^6 células OPM2, OPM2 GPRC5D KO u OPM2 BCMA KO. Al día 14 después de la inyección (día 0) se determinó la

bioluminiscencia de los tumores y se trataron ratones con tamaños de tumor similares con las composiciones de linfocitos T primarias que contenían células diseñadas para expresar el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D) o el CAR anti-BCMA (αBCMA), o que contenían células agrupadas αGPRC5D y αBCMA. A los ratones se les inyectó una de las tres dosis de las composiciones de linfocitos T 14 días después de la inyección con células OPM2: 5 x 10^5 linfocitos T-CAR totales, 1 x 10^6 linfocitos T-CAR totales, o 2 x 10^6 linfocitos T-CAR totales. Las composiciones de linfocitos T no tratados y simulados sirvieron como controles.

[000881] Como se muestra en Las **figuras** 25A y 25B, en ratones administrados 3 x 10^6 la carga tumoral total linfocitos T -CAR (evaluada por OPM2 BLI) se mantuvo baja en ratones tratados con las células agrupadas αGPRC5D y αBCMA, independientemente del tipo de célula OPM2 inyectada. Por el contrario, los ratones tratados solo con células que expresan el CAR anti-BCMA (αBCMA) demostraron un aumento de la carga tumoral cuando se inyectaron con células OPM2 BCMA KO (**figura** 25B, panel superior). De manera similar, los ratones tratados solo con células que expresan el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D) demostraron un aumento de la carga tumoral cuando se inyectaron con células KO OPM2 GPRC5D (**figura** 25B, panel inferior). Este resultado está de acuerdo con el hallazgo

general de que los CAR individuales son específicos para su antígeno objetivo.

[000882] En un experimento similar, los ratones NOD scid gamma (NSG™) fueron tratados con 5 x 105, 1 x 10^6, o 2 x 10^6 linfocitos T humanos primarios totales a partir de composiciones que contenían (1) células diseñadas para expresar el CAR anti-BCMA, (2) células diseñadas para expresar el CAR anti-GPRC5D, o (3) células agrupadas αGPRC5D y αBCMA, después de la inyección con células OPM2 que expresan BCMA y GPRC5D. Como control, los ratones también se trataron con composiciones simuladas de linfocitos T humanos primarios transducidos. La sobrevida se evaluó a 100 días, como se muestra en la **figura** 26. Como se muestra, la administración de la composición de linfocitos T que contiene células agrupadas αGPRC5D y αBCMA mejoró la eficacia antitumoral en este modelo en comparación con la administración de una composición de linfocitos T que solo contiene células que expresan el CAR anti-BCMA.

C. Evaluación de la composición de los linfocitos T en un modelo de xenoinjerto murino RPMI8226

[000883] Además del modelo OPM2, se utilizó un modelo GPRC5D de baja expresión RPMI-8226 para evaluar los efectos in vivo de las composiciones de linfocitos T humanos que contienen células que expresan el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D) o células que expresan el CAR anti-BCMA (αBCMA) o que contienen ambos.

[000884] Se inyectaron un total de 1 x 10^7 células RPMI8226 subcutáneamente en NOD scid gamma (NSG™). Aproximadamente 25 días después de la inyección de las células RPMI226, se administraron composiciones de linfocitos T que expresan CAR que contenían (1) células diseñadas para expresar el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D), (2) células diseñadas para expresar el CAR anti-BCMA (αBCMA), o (3) células agrupadas generadas en una relación de 1:1 de células que expresan el CAR GPRC5D-dirgido en células que expresan el CAR BCMA-dirigido (células agrupadas αGPRC5D y αBCMA). Se trataron los ratones con una de las tres dosis de las composiciones de linfocitos T 25 días después de la inyección con las células RPMI8226: 1.25 x 10^6 linfocitos T CAR totales, 2.5 x 10^6 linfocitos T CAR totales, o 5 x 10^6 linfocitos T CAR totales. Los controles fueron los no tratados y los tratados con tratamiento con linfocitos T transducidos de manera simulada.

[000885] Como se muestra en la **figura** 27, el volumen del tumor aumentó de manera dependiente de la dosis en ratones tratados con células que solo expresan el CAR anti-GPRC5D. Por el contrario, los ratones tratados con células que solo expresan el CAR anti-BCMA, o con las células agrupadas αGPRC5D y αBCMA, demostraron aumentos mínimos en el volumen del tumor. En particular, los resultados indicaron que en todas las dosis probadas (5 x 10^6, 2.5 x 10^6, y 1.25 x 10^6), las células agrupadas αGPRC5D y αBCMA tuvieron una eficacia

similar a la de los linfocitos T que solo expresan el CAR anti-BCMA, a pesar de que la contribución del CAR anti-BCMA es la mitad en la composición de los linfocitos T agrupados. Este resultado indica que las células que expresan anti-GPRC5D-CAR en la composición agrupada contribuyen muchos más que la dosis única. La sobrevida se evaluó hasta el día 100, como se muestra en la **figura** 28. El análisis de la sobrevida reveló resultados similares, ya que los ratones tratados con células que solo expresan el CAR anti-GPRC5D mostraron una menor sobrevida a lo largo del tiempo, pero a dosis más altas los ratones tratados con células agrupadas αGPRC5D y αBCMA mostraron una eficacia similar a los ratones tratados con linfocitos T que solo expresan el CAR anti-BCMA. Estos resultados concuerdan con el hallazgo general de que el tratamiento con células que solo expresan una CAR anti-GPRC5D puede ser menos eficaz en un modelo tumoral de baja expresión de GPRC5D, pero que el CAR anti-GPRC5D puede contribuir a la eficacia antitumoral al expresar composiciones celulares de CAR de doble diana.

Ejemplo 17: Generación de composiciones de células T bicistrónicas diseñadas para CAR anti-BCMA y anti-GPRC5D

[000886] Las composiciones de células T humanas primarias se diseñaron para producir composiciones de células T de doble objetivo, en las que las composiciones contenían células que expresan receptores de antígeno quimérico (CAR) para el doble

objetivo de BCMA y GPRC5D. Se generaron cinco composiciones de células T diseñadas por separado, como se resume en la **figura** 29. Cada constructo de CAR generado contenía un dominio de unión a antígeno scFv ejemplar contra GPRC5D (ej. SEQ ID n.° 8) o BCMA (ej. SEQ ID n.° 241); un espaciador largo (bisagra-CH2-CH3, 228aa; SEQ ID n.° 17; con modificaciones de CH2 para limitar la unión al receptor Fc); un dominio transmembrana derivado de CD28 humano (SEQ ID n.° 18); un dominio de señalización intracelular derivado de 4-1BB humano (SEQ ID n.° 19) o un dominio de señalización intracelular derivado de CD28 humano (SEQ ID n.° 18); y un dominio de señalización intracelular derivado de CD3zeta humano (SEQ ID n.° 20).

[000887] En una estrategia (que se muestra en (i) y (ii) de la **figura** 29), las células que expresan un solo CAR contra BCMA o GPRC5D se fabricaron en paralelo y se combinaron en una única composición que contenía células que expresan CAR anti-BCMA y células que expresan CAR anti-GPRC5D en una proporción 1:1 (células combinadas de GPRC5D y BCMA). Las células T que expresan CAR anti-BCMA de la composición combinada se diseñaron para expresar un CAR anti-BCMA que incorpora un dominio coestimulador 4-1BB (SEQ ID n.° 312). Las células T que expresan CAR anti-GPRC5D de la composición combinada se diseñaron para expresar un CAR anti-GPRC5D que incorpora un dominio coestimulador 4-1BB (SEQ ID n.° 313) o

un dominio coestimulador CD28 (SEQ ID n.° 314). Esto dio como resultado dos composiciones combinadas diferentes. La primera composición contenía células que expresan un CAR anti-BCMA que incorpora un dominio coestimulador 4-1BB y células que expresan un CAR anti-GPRC5D que incorpora un dominio coestimulador 4-1BB (células combinadas de BCMA-41BB y GPRC5D-41BB). La segunda composición contenía células que expresan un CAR anti-BCMA que incorpora un dominio coestimulador 4-1BB y células que expresan un CAR anti-GPRC5D que incorpora un dominio coestimulador CD28 (células combinadas de BCMA-41BB y GPRC5D-CD28). Se generaron composiciones separadas que contenían células que expresan solo el CAR anti-BCMA o solo el CAR anti-GPRC5D para desempeñarse como controles.

[000888] En otra estrategia de doble objetivo, que se muestra en (iii) y (iv) de la **figura** 29, se generaron constructos bicistrónicos que codificaban dos CAR separados (anti-BCMA y anti-GPRC5D), en los que las secuencias de nucleótidos que codifican el CAR anti-BCMA y el CAR anti-GPRC5D se separaron por una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido T2A bicistrónico de autoescisión (SEQ ID n.° 319, que codifica SEQ ID n.° 37). Los polinucleótidos que codifican los diferentes CAR se divergieron con codones para reducir la recombinación homóloga de los nucleótidos que codifican los CAR anti-BCMA y anti-GPRC5D. En el constructo

que se representa en (iii) ambos CAR incorporaron un dominio coestimulador 4-1BB (BCMA-41BB-GPRC5D-41BB; SEQ ID n.° 315). En el constructo que se representa en (iv), el CAR anti-BCMA incorporó un dominio coestimulador 4-1BB y el CAR anti-GPRC5D incorporó un dominio coestimulador CD28 (BCMA-41BB-GPRC5D-CD28; SEQ ID n.° 316).

[000889] En otra estrategia de doble objetivo, se generó un constructo de CAR de "tallo único" como se muestra en (v), que codifica un scFv específico para BCMA y un scFv específico para GPRC5D en tándem (GPRC5D-BCMA-41BB; SEQ ID n.° 317), en el que las secuencias que codifican los dos scFv se separaron mediante un conector flexible (SEQ ID n.° 320). El constructo ejemplar incorporó un dominio coestimulador 4-1BB (SEQ ID n.° 60, que codifica SEQ ID n.° 19).

[000890] Los constructos de ácido nucleico que codifican los diversos CAR se clonaron en vectores de expresión retrovirales para la transducción de células T humanas primarias, sustancialmente como se describe en el Ejemplo 3. Después de la transducción retroviral de las células, se evaluó la expresión de los diversos constructos mediante análisis de citometría de flujo con reactivos específicos para CAR anti-GPRC5D o CAR anti-BCMA, o un anticuerpo para el dominio espaciador común a todos los constructos de CAR. Como se muestra en la **figura** 30, todos los constructos evaluados se expresaron de manera comparable con las células T humanas

primarias. El control negativo de fluorescencia menos uno (FMO) no exhibió expresión.

[000891] Cuatro a diez días después de la transducción, se evaluó la eficiencia de transducción de las células T humanas primarias con un reactivo específico para cada CAR. Los resultados se muestran en la **figura** 31. Para todos los donantes evaluados, se determinó que la eficiencia de transducción retroviral de las células diseñadas con constructos bicistrónicos de doble objetivo (que se muestran en iii y iv de la **figura** 31) o constructos de "tallo único" (que se muestran en v de la **figura** 31) era del 50% al 70%, en comparación con las células diseñadas para expresar un solo CAR tal como se observa en las composiciones de CAR combinadas (que se muestran en i e ii de la **figura** 31). Los resultados que se presentan son de un donante representativo.

Ejemplo 18: Evaluación in vitro de los receptores de antígeno quimérico bicistrónicos anti-BCMA y anti-GPRC5D

A. Citotoxicidad de las composiciones de células T

[000892] Las células T humanas primarias que expresan CAR, generadas como se describe en el Ejemplo 17, se cultivaron conjuntamente con una línea celular de mieloma múltiple tipo natural OPM2 o una línea celular OPM2 de inactivación (KO) de BCMA durante 24 horas a proporciones crecientes E:T, y se evaluó la lisis celular. Las composiciones celulares que expresan CAR de un solo objetivo se desempeñaron como

controles de la siguiente manera: un CAR anti-BCMA con un dominio coestimulador 4-1BB (BCMA-41BB), un CAR anti-GPRC5D con un dominio coestimulador 4-1BB (GPRC5D-41BB) o un CAR anti-GPRC5D con un dominio coestimulador CD28 (GPRC5D-CD28). Como control negativo, se generó una composición celular en la que las células expresaban el mismo CAR anti-BCMA, pero carecían de los dominios de señalización 4-1BB y CD3zeta (BCMA del CAR; SEQ ID n.° 318).

[000893] Como se muestra en la **figura** 32A, todas las composiciones celulares ejemplares generadas pudieron lisar eficazmente las células diana OPM2 tipo natural, excepto las células que expresan BCMA del CAR. Como se muestra en la **figura** 32B, todas las composiciones celulares ejemplares generadas pudieron lisar las células diana OPM2 de KO de BCMA, excepto las células que expresan BCMA del CAR y las células que expresan el CAR BCMA-41BB de un solo objetivo, de acuerdo con la selectividad del CAR anti-BCMA por su antígeno diana. Los resultados se expresan como media ± SEM y se muestran para un experimento representativo que se realizó por triplicado.

B. Secreción de citoquinas de composiciones de células T

[000894] Las composiciones celulares ejemplares generadas se cultivaron conjuntamente en una proporción 1:1 durante 24 horas con células diana que expresan BCMA y GPRC5D (**figura** 33A), solo BCMA (**figura** 33B) o solo GPRC5D (**figura** 33C). Se

recolectó el sobrenadante para el análisis de citocinas mediante el ensayo multiplex Luminex®. Los resultados se muestran en Las **figuras** 33A-C para las citocinas ejemplares GM-CSF, IFNg, IL-13 e IL-2 (de izquierda a derecha); las concentraciones se expresan en pg/mL, con puntos en la escala que representan 50,000 pg/mL y 100,000 pg/mL.

[000895] Cuando se cultivaron con células diana que expresan ambos antígenos, todas las composiciones celulares ejemplares generadas exhibieron secreción de citocinas, excepto las células que expresan BCMA del CAR. Cuando se cultivaron con células diana que expresan solo BCMA, las composiciones celulares que expresan únicamente un CAR anti-GRPC5D de un solo objetivo (GPRC5D-41BB y GPRC5D-CD28) no secretaron las citocinas evaluadas a niveles detectables. De manera similar, cuando se cultivó con células diana que expresan solo GPRC5D, la composición celular que expresa solo un CAR anti-BCMA (BCMA-41BB) no secretó las citocinas evaluadas a niveles detectables. Por lo general, estos resultados son coherentes con el hallazgo de que las células T diseñadas para expresar los constructos de CAR ejemplares generados son capaces de secretar citocinas específicas de antígenos.

Ejemplo 19: Evaluación in vivo de los receptores de antígeno quimérico bicistrónicos anti-BCMA y anti-GPRC5D

[000896] Los modelos murinos de mieloma múltiple se utilizaron para evaluar los efectos in vivo de las

composiciones de células T que contienen células diseñadas para expresar los constructos de CAR ejemplares dirigidos a antígenos simples y duales, que se describen en los Ejemplos 17 y 18. Los estudios se llevaron a cabo en un modelo de xenoinjerto murino de OPM2. La línea celular de OPM2 se diseñó para expresar luciferasa de luciérnaga (OPM2-ffLuc) o luciferasa cipridina anclada a la membrana (OPM2 Cyprinda Luc). Se inyectó a ratones NOD scid gamma (NSG™) el día 0 a través de la vena de la cola con 2 x 10^6 células OPM2-ffLuc, a las que se les permitió injertarse y expandirse durante 14 días.

A. Efecto de los CAR de doble objetivo en un modelo de xenoinjerto murino de OPM2

[000897] En un modelo de xenoinjerto murino de OPM2, se evaluaron composiciones de células T humanas primarias que contienen (1) células que expresan solo el anti-BCMA del CAR; BCMA del CAR, (2) células que expresan solo el CAR anti-BCMA que incorpora un dominio coestimulador 4-1BB; BCMA-41BB, (3) células que expresan el constructo de "tallo único" dirigido a BCMA y GPRC5D; GPRC5D-BCMA-41BB; o (4) células que expresan un constructo bicistrónico que codifica un CAR anti-BCMA y un CAR anti-GPRC5D separados por un elemento bicistrónico, ya sea en el formato BCMA-41BB-GPRC5D-41BB o en el formato BCMA-41BB-GPRC5D-CD28.

[000898] El día 14 después del injerto de células OPM2-ffLuc, los ratones se trataron con una inyección en la vena de la cola de 3 x 10^6 células T que expresan uno de los siguientes constructos de CAR: (1) BCMA del CAR; (2) CAR BCMA-41BB; (3) CAR BCMA-41BB-GPRC5D-41BB; (4) CAR BCMA-41BB-GPRC5D-CD28; o (5) GPRC5D-BCMA-41BB. El BCMA del CAR y el CAR de un solo objetivo se desempeñaron como controles.

[000899] La **figura** 34A se muestra la curva de supervivencia de los ratones tratados. La mediana de supervivencia global (mOS) de ratones tratados con BCMA del CAR (control negativo) fue de 32 días, mientras que la mOS de los otros grupos no se alcanzó cuando se monitoreó hasta el día 105 ($p<0.05$).

[000900] En un experimento relacionado, se generó una línea celular OPM2 de inactivación (KO) de BCMA, sustancialmente como se describe en los ejemplos anteriores. Los ratones supervivientes de la **figura** 34A se volvieron a exponer a una segunda inyección de 2 x 10^6 células OPM2 de KO de BCMA. Como se muestra en la **figura** 34B, la mOS de los ratones tratados con células que expresan el CAR BCMA-41BB de un solo objetivo fue de 37 días después de la reexposición, mientras que la mOS de los ratones tratados con cualquiera de los constructos de CAR de doble objetivo no se alcanzó ($p<0.05$).

[000901] La carga tumoral de los ratones tratados se evaluó mediante imágenes de bioluminiscencia (BLI) en los días 30 y 105 después de la inyección original de células OPM2, y en el

día 36 después de la reexposición a las células OPM2 de KO de BCMA (**figura** 35A-C). Como se muestra en la **figuras** 35A y **figura** 35B, únicamente los ratones tratados con BCMA del CAR mostraron una carga tumoral antes de la nueva exposición. Como se muestra en la **figura** 35C, los ratones tratados con células que expresan un CAR BCMA-41BB de un solo objetivo exhibieron una carga tumoral sustancial después de la reexposición a células OPM2 de KO de BCMA, en comparación con los ratones tratados con células que expresan constructos de CAR de doble objetivo.

[000902] Estos resultados son coherentes con el hallazgo de que un CAR anti-BCMA de un solo objetivo es menos efectivo para controlar las células tumorales que no expresan BCMA, en comparación con los métodos dirigidos tanto a BCMA como a GPRC5D.

B. Comparación de los dominios de señalización coestimuladores de CAR en un modelo murino de mieloma múltiple

[000903] Después del injerto y la expansión de las células tumorales OPM2-ffLuc, los ratones se trataron con 5 x 105 células T que expresan uno de los siguientes constructos de un solo o doble objetivo: (1) BCMA del CAR; (2) BCMA-41BB; (3) GPRC5D-41BB; (4) GPRC5D-CD28; (5) GPRC5D-BCMA-41BB; (6) BCMA-41BB-GPRC5D-41BB; o (7) BCMA-41BB-GPRC5D-CD28. El BCMA

del CAR y los CAR de orientación única sirvieron como controles.

[000904] La supervivencia de los ratones se muestra en la **figura** 36. La mOS de los ratones tratados con BCMA del CAR (control negativo) fue de 38 días. Por el contrario, la mOS de los ratones en todos los demás grupos de tratamiento aumentó significativamente después de los 38 días ($p<0.05$). El tratamiento con células que expresan el CAR anti-GPRC5D de un solo objetivo que incorpora un dominio coestimulador CD28 se asoció con una mOS más corta, en comparación con el tratamiento con células que expresan los otros constructos ($p<0.05$).

[000905] La carga tumoral se evaluó mediante imágenes de bioluminiscencia (BLI) a los 14 días (**figura** 37A), 29 días (**figura** 37B) y 36 días (**figura** 37C) después de la inyección de células OPM2. Como se muestra en la **figura** 37A, todos los grupos de ratones demostraron una carga tumoral sustancial en el momento del tratamiento con composiciones de células T con CAR. La **figura** 37B y **figura** 37C se muestra que el día 29 o el día 36, respectivamente, después de la inyección de células OPM2, los ratones tratados con células que expresan el BCMA del CAR (control negativo) exhibieron una carga tumoral sustancial. Además, los ratones tratados con células que expresan el CAR GPRC5D-CD28 de un solo objetivo demostraron una carga tumoral mínima. Por el contrario, todos los otros

grupos tratados redujeron la carga tumoral el día 29 y no exhibieron una carga tumoral considerable el día 36.

C. Comparación de los dominios de señalización coestimuladores de CAR en un modelo murino de escape del antígeno de mieloma múltiple

[000906] Para comprender los efectos de diferentes dominios coestimuladores en un modelo murino de escape del antígeno de mieloma múltiple, se inyectó a ratones NSG en el día 0 a través de la vena de la cola con 2 x 106 células OPM2 diseñadas para expresar cipridina luciferasa (OPM2 Cyprinda Luc) atada a la membrana, enriquecidas con células OPM2 de KO de BCMA del 5% al 10% diseñadas para expresar luciferasa de luciérnaga (Firefly Luc). Las diferentes luciferasas utilizadas permitieron la imagen diferencial de las células OPM2 tipo natural y las células OPM2 de KO de BCMA. Se permitió que las células tumorales se injertaran y expandieran durante 14 días.

[000907] El día 14, los ratones se trataron con 5 x 105 células T diseñadas para expresar uno de los siguientes constructos: (1) BCMA del CAR; (2) BCMA-41BB; (3) células combinadas de BCMA-41BB y GPRC5D-41BB; (4) células combinadas de BCMA-41BB y GPRC5D-CD28; (5) BCMA-41BB-GPRC5D-41BB; (6) BCMA-41BB-GPRC5D-CD28; o (7) GPRC5D-BCMA-41BB. El BCMA del CAR y los CAR de orientación única sirvieron como controles.

[000908] Se evaluó la carga tumoral en ratones mediante BLI el día 28. Como se muestra en la **figura** 38, el tratamiento con células T con CAR erradicó las células OPM2 tipo natural en todos los grupos. En cambio, las células T con CAR que expresan un CAR anti-GPRC5D que incorpora un dominio coestimulador CD28, ya sea incluido en una composición de células T combinada o en un constructo bicistrónico, no pudieron erradicar las células OPM2 de KO de BCMA.

[000909] En un experimento similar, los ratones NSG se inyectaron por vía intravenosa en el día 0 con la composición mixta de células OPM2 tipo natural y OPM2 de KO de BCMA, para establecer un modelo de xenoinjerto de mieloma múltiple trópico de médula ósea. Se permitió que las células se injertaran y expandieran durante 14 días, y luego se trató a los ratones con una inyección intravenosa única de 2.5 x 10^5 células T que expresan uno de los siguientes constructos: (1) BCMA del CAR; (2) células combinadas de BCMA-41BB y GPRC5D-41BB; (3) BCMA-41BB-GPRC5D-41BB; y (4) GPRC5D-BCMA-41BB. Los ratones tratados con células que expresan BCMA del CAR actuaron como control negativo. En este experimento, todos los constructos de CAR, excepto el control negativo, incorporaron un dominio coestimulador 4-1BB.

[000910] La supervivencia de los ratones tratados con las composiciones celulares indicadas 14 días después de la inyección de OPM2 se muestra en la **figura** 39. En comparación

con los ratones tratados con células que expresan BCMA del CAR, todos los demás grupos de tratamiento mostraron aumentos significativos en la supervivencia ($p<0.001$ para todos los CAR frente al control). En particular, los ratones tratados con células que expresan el CAR GPRC5D-BCMA-41BB de tallo único exhibieron una supervivencia significativamente más corta en comparación con los ratones tratados con (1) células que expresan el constructo BCMA-41BB-GPRC5D-41BB o (2) células que expresan el CAR GPRC5D-41BB y las células que expresan el CAR BCMA-41BB, combinadas en una proporción 1:1 ($p<0.05$ para el constructo de un solo tallo en comparación con cualquiera de los otros dos métodos de doble objetivo).

[000911] La carga tumoral del modelo trópico de médula ósea se evaluó mediante BLI a los 14 días (**figura** 40A), 36 días (**figura** 40B), y 48 días (**figura** 40C) después de la inyección de células tumorales. Todos los grupos de tratamiento exhibieron carga tumoral en el momento del tratamiento con células T con CAR como se muestra en la **figura** 40A. Como se muestra en la **figura** 40B, todos los tratamientos pudieron controlar de manera efectiva las células OPM2 tipo natural en el día 36. Sin embargo, como se muestra en la **figura** 40C, para el día 48, la composición celular combinada CAR GPRC5D-4-1BB/BCMA-41BB y la composición celular del constructo bicistrónico BCMA-41BB-GPRC5D-41BB fueron más efectivas que una composición que contiene células

que expresan el constructo de CAR de tallo único (GPRC5D-BCMA-41BB).

Ejemplo 20: Generación de polinucleótidos bicistrónicos adicionales que codifican receptores de antígeno quimérico anti-GPRC5D y anti-BCMA

[000912] Se generaron polinucleótidos bicistrónicos adicionales que codifican tanto un CAR anti-GPRC5D como un CAR anti-BCMA.

[000913] El ejemplar CAR anti-GPRC5D contenía un dominio de unión a antígeno scFv capaz de unirse a GPRC5D (ej. GPRC5D-203 V_L/V_H scFv (SEQ ID n.° 8); una inmunoglobulina bisagra-CH2-CH3 estipulada en SEQ ID n.° 17, codificada mediante la secuencia estipulada en SEQ ID n.°73; un dominio transmembrana derivado de CD28 humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 18); un dominio de señalización intracelular derivada de 4-1BB humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 19); y un dominio de señalización intracelular derivada de CD3zeta humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 20).

[000914] El CAR anti-BCMA ejemplar contenía un dominio de unión a antígeno scFv capaz de unir células que expresan BCMA (por ejemplo, scFv de BCMA-55, V_L/V_H (SEQ ID n.° 241); una inmunoglobulina bisagra-CH2-CH3 estipulada en SEQ ID n.° 17, codificada mediante la secuencia estipulada en SEQ ID n.°73; un dominio transmembrana derivado de CD28 humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 18); un dominio de señalización

intracelular derivada de 4-1BB humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 19); y un dominio de señalización intracelular derivada de CD3zeta humana (por ejemplo, SEQ ID n.° 20).

[000915] Las secuencias de nucleótidos que codifican cada uno de los CAR se separaron con codones optimizados antes de su combinación en un único constructo de polinucleótido bicistrónico.

[000916] Los polinucleótidos bicistrónicos se generaron en dos formatos. El primer formato se generó con la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR anti-GPRC5D ubicado hacia el extremo 5’ del polinucleótido (terminal N de un polipéptido) en relación con la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR anti-BCMA (“αGPRC5D-αBCMA”; SEQ ID n.° 303 que codifica SEQ ID n.° 301). El segundo formato se generó con la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR anti-BCMA ubicado hacia el extremo 5’ del polinucleótido (terminal N de un polipéptido) en relación con la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR anti-GPRC5D (“αBCMA-αGPRC5D”; SEQ ID n.° 300 que codifica SEQ ID n.° 298). Las secuencias de nucleótidos que codifican el CAR anti-GPRC5D y el CAR anti-BCMA se separaron mediante una secuencia de nucleótidos que codifica un elemento de omisión del ribosoma descendente (como un péptido T2A de autoescisión; SEQ ID n.° 44 o 45 que codifica SEQ ID n.° 37).

[000917] Las construcciones de polinucleótidos se clonaron en un vector de expresión lentiviral para la transducción de los linfocitos T. Las células Jurkat se sometieron a una transducción estable con el vector lentiviral que contiene las construcciones bicistrónicas polinucleótidas que contienen el formato CAR αGPRC5D-αBCMA CAR o el formato CAR αBCMA-αGPRC5D. A modo de control, las células Jurkat también se sometieron a una transducción con construcciones que codificaban el CAR anti-GRPC5D o anti-BCMA CAR con un solo antígeno diana. La transducción se realizó con 5×10^5 células/pocillo y la expresión del CAR se determinó el día 3. La expresión de los CAR se evaluó mediante una citometría de flujo con un reactivo de unión específico del dominio de unión a antígenos de cada CAR.

[000918] El análisis de la citometría de flujo mostró que la expresión del CAR codificado por la secuencia de nucleótidos situada a 3’ (CAR posterior) se redujo significativamente en ambos formatos bicistrónicos en comparación con el CAR codificado por la secuencia de nucleótidos situada a 5’ (CAR inicial) o en comparación con la expresión de una construcción que codifica solamente un único CAR. En particular, la **figura** 41A muestra los resultados de la expresión porcentual de CAR anti-BCMA de los formatos evaluados, y la **figura** 41B muestra la expresión del CAR anti-GPRC5D de los formatos evaluados. El análisis por PCR del ADN

genómico de las células Jurkat transducidas indicó que la secuencia de nucleótidos que codifica CAR situada a 3' se perdió por recombinación (estos datos no se muestran).

Ejemplo 21: Divergencia de codones de polinucleótidos bicistrónicos que codifican receptores de antígenos quiméricos anti-GPRC5D y anti-BCMA

[000919] Para reducir la posible recombinación y pérdida de la secuencia de nucleótidos que codifica CAR situada a 3', la secuencia de ácidos nucleicos que codifica uno de los CAR se sometió a una divergencia de codones. En este ejemplo, la secuencia de ácidos nucleicos que codifica CAR anti-GPRC5D se sometió a una divergencia de codones en comparación con la secuencia descrita en el Ejemplo 20.

[000920] En particular, las porciones de la secuencia de nucleótidos que codifican scFv, el espaciador de inmunoglobulina, el dominio de transmembrana CD28, el endodominio 4-1BB y el endodominio CD3ζ se sometieron a una divergencia de codones, de tal manera que los nucleótidos que codifican cada uno de estos componentes difirieron con respecto a los nucleótidos en comparación con la secuencia de nucleótidos que codifican el mismo componente en el CAR anti-BCMA, mientras que aún codifican las secuencias de aminoácidos idénticas. La secuencia del nucleótido se sometió a una divergencia de codones, de tal manera que no hubo más de 10 pares de bases consecutivos (o contiguos) de homología

de secuencia entre la secuencia de nucleótidos que codifican CAR anti-GPRC5D y la secuencia de nucleótidos que codifican CAR anti-BCMA de la construcción bicistrónica. Luego de la divergencia de codones de CAR anti-GPRC5D, los polinucleótidos se analizaron para detectar sitios de empalme (por ejemplo, con la herramienta de predicción de sitios de empalme NNSPLICE, versión 0.9; fruitfly.org, Berkeley Drosophila Genome Project, Berkeley, CA). Los lugares de empalme del donante y los lugares de empalme del aceptador se evaluaron de forma independiente. Los lugares de empalme del donante y de empalme del aceptador identificados con un puntaje del lugar del empalme de >0.7 (probabilidad de >70% de un evento de empalme), por ejemplo, en la región del promotor y en la región del espaciador largo) se modificaron mediante mutación silenciosa para reducir el puntaje del lugar de empalme a menos de 0.7.

[000921] Se utilizaron vectores lentivirales que contenían las construcciones bicistrónicas del polinucleótido para transducir los linfocitos T Jurkat y la expresión de la superficie celular de los CAR se monitoreó con citometría de flujo, utilizando un reactivo de unión específico para cada dominio de unión a antígeno del CAR.

[000922] Como se muestra en la **figuras** 42A y 42B, la divergencia de codones de la construcción bicistrónica del polinucleótido mejoró considerablemente la expresión del CAR

codificado por la secuencia de nucleótidos situada a 3' en comparación con la expresión del mismo CAR codificado por el polinucleótido bicistrónico original. Por ejemplo, como se muestra en Las **figuras** 42A, la expresión del CAR anti-BCMA era relativamente baja en las células que habían sido transducidas con la construcción bicistrónica αGPRC5D-αBCMA original, pero esta expresión fue sustancialmente mejorada en las células que habían sido transducidas con la respectiva construcción con divergencia de codones (CD). Del mismo modo, como se muestra en la **figura** 42B, la expresión del CAR anti-GPRC5D era relativamente baja en las células que habían sido transducidas con la construcción bicistrónica αBCMA-αGPRC5D original, pero esta expresión fue sustancialmente mejorada en las células que habían sido transducidas con la respectiva construcción con divergencia de codones (CD).

Ejemplo 22: Evaluación in vitro de composiciones de linfocitos T de doble diana GPRC5D/BCMA genomanipulados por CAR

[000923] Las composiciones de los linfocitos T, ya sean linfocitos T Jurkat Nur77-RFP reporteros o primarios, que contienen 1) células genomanipuladas para expresar solamente el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D), 2) células genomanipuladas para expresar solamente el CAR anti-BCMA (αBCMA), o 3) células de doble diana que expresan ambos CAR mediante la transducción de construcciones bicistrónicas con divergencia de codones,

como se describe en el Ejemplo 5, en los formatos αBCMA-αGPRC5D o αGPRC5D-αBCMA, se evaluaron para determinar la actividad específica del antígeno en el cocultivo con las células que expresan el antígeno. Una línea celular T Jurkat Nur77-RFP o linfocitos T primarios aislados por enriquecimiento basado en la inmunoafinidad a partir de muestras de leucaféresis de sujetos humanos donantes se transdujeron con el vector lentiviral que codifica las construcciones individuales de CAR o que contiene la construcción bicistrónica que codifica CAR anti-BCMA y CAR anti-GPRC5D (células de doble diana). Después de la transducción, y en algunos casos de expansión, los linfocitos T se tiñeron con un anticuerpo específico para cada CAR y se analizaron mediante citometría de flujo, lo que confirmó la transducción de las células y la expresión de los CAR.

[000924] En algunos experimentos, se evaluó una composición de linfocitos T agrupados que contenían células que expresaban por separado el CAR anti-BCMA y el CAR anti-GPRC5D, como se describe en el Ejemplo 13 ("αGPRC5D αBCMA y células agrupadas").

A. Actividad dependiente de antígenos en presencia de líneas celulares de mieloma múltiple

[000925] Las células Jurkat genomanipuladas se cocultivaron en una proporción E:T de 1:1 durante 20 horas con líneas celulares de mieloma múltiple que expresaban cantidades

distintas de BCMA y GPRC5D. Las líneas celulares de mieloma múltiple incluían KMS12BM, MM.1S, NCI-H929, OPM-2 y RPMI8226 (consulte el Ejemplo 16, donde se describen los niveles de expresión de GPRC5D y BCMA en las líneas celulares). La línea celular K562 de leucemia mielógena crónica (LMC), así como una línea celular K562 genomanipulada para expresar GPRC5D, se incluyeron como controles negativos y positivos, respectivamente. La estimulación específica del antígeno del CAR se evaluó mediante la medición de los cambios en la expresión de RFP por citometría de flujo.

[000926] Como se muestra en la **figura** 43, las células reporteras Jurkat Nur77/RFP que expresan los CAR αBCMA, αGPRC5D, αBCMA-αGPRC5D, o αGPRC5D-αBCMA se estimularon mediante el cocultivo con las distintas líneas celulares de mieloma múltiple, tal como lo demuestra el porcentaje de células con señal de RFP (%Nur77). Como se muestra, las células que expresan solamente CAR αGPRC5D respondían menos a ciertas células diana como la línea celular KMS12BM, pero la actividad reportera se incrementó en las composiciones celulares que expresan los CAR de doble diana.

B. Secreción de citocinas en presencia de líneas celulares de mieloma múltiple

[000927] Para determinar la actividad específica de cada antígeno, se evaluaron las composiciones primarias de linfocitos T humanos que contienen 1) linfocitos T

genomanipulados para expresar solamente el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D), 2) linfocitos T genomanipulados para expresar solamente el CAR anti-BCMA (αBCMA), 3) linfocitos T que contienen células de doble diana que expresen ambos CAR mediante la transducción de construcciones bicistrónicas en los formatos αBCMA-αGPRC5D o αGPRC5D-αBCMA, o 4) linfocitos T combinados genomanipulados por separado para expresar el CAR anti-BCMA o el CAR anti-GPRC5D agrupados en una proporción de 1:1 de células que expresan CAR anti-BCMA a células que expresan CAR anti-GPRC5D (células agrupadas αGPRC5D y αBCMA). Como control, las composiciones primarias de linfocitos T humanos se transdujeron de manera simulada. Los linfocitos T se cocultivaron en una proporción E:T de 1:1 durante 24 horas con las líneas celulares de mieloma múltiple KMS12BM, MM.1S, NCI-H929, OPM2 y RPMI8226, y se recolectaron los sobrenadantes para realizar el análisis de citocinas mediante el ensayo múltiplex Luminex®.

[000928] Los niveles de secreción de IFNγ, IL-2, TNFα se evaluaron después del cocultivo de las composiciones primarias de linfocitos T humanos con las diversas líneas celulares de mieloma múltiple, tal como se muestra en las **figura** 44A, 44B y 44C, respectivamente. Se observó secreción de citocinas en todas las composiciones primarias de linfocitos T humanos probadas, excepto en la composición de linfocitos T transducidos de manera simulada. En el caso de

determinadas líneas celulares, la secreción de citocinas se incrementó con composiciones celulares que contenían los formatos de doble diana αBCMA-αGPRC5D o αGPRC5D-αBCMA o las células agrupadas αGPRC5D y αBCMA, en comparación con las composiciones celulares genomanipuladas para expresar solamente αGPRC5D o solamente los CAR αBCMA.

D. Actividad antígeno-dependiente en presencia de células inactivadas (KO) GPRC5D o anti-BCMA

[000929] Para comprender la actividad dependiente del antígeno de los CAR anti-BCMA y anti-GPRC5D en el contexto de la pérdida de antígenos, se creó un modelo de pérdida de antígenos mediante la eliminación de GPRC5D o BCMA de las células OPM2. GPRC5D se eliminó de las células OPM2 tal como se describe en el Ejemplo 5. BMCA se eliminó de las células OPM2 tal como se describe en el Ejemplo 12.

[000930] El análisis de la citometría de flujo confirmó una falta de expresión de GPRC5D en las células KO OPM2 GPRC5D y una falta de expresión de BCMA en las células KO OPM2 BCMA. Las células de tipo salvaje OPM2 (OPM2 WT) funcionaron como control y mostraron la expresión tanto de GPRC5D como de BCMA (consulte, por ejemplo, la **figura** 22A).

[000931] Para detectar la actividad específica del antígeno, se evaluaron las composiciones de células reporteras Jurkat Nur77-RFP que contenían células genomanipuladas para expresar solamente el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D) o solamente el CAR

anti-BCMA (αBCMA), o que contenían células de doble diana que expresaban ambos CAR mediante la transducción de las construcciones bicistrónicas en los formatos αBCMA-αGPRC5D o αGPRC5D-αBCMA. Las diversas composiciones de células reporteras Jurkat Nur77-RFP se cocultivaron con células OPM2 WT, OPM2 GPRC5D KO u OPM2 BCMA KO en una proporción de 1:1 durante 20 horas. La estimulación específica de antígenos de los CAR expresada por las composiciones celulares se evaluó mediante la medición de los cambios en la expresión del RFP por medio citometría de flujo.

[000932] Como se muestra en la **figura** 45, no se observó la activación de las células reporteras Jurkat Nur77-RFP no agrupadas que expresan solamente el CAR dirigido a GPRC5D (αGPRC5D) o solamente el CAR dirigido a BCMA (αBCMA) cuando se cocultivaron con células OPM2 en las que GPRC5D o BCMA se eliminaron, respectivamente. Por el contrario, la activación se mantuvo en las composiciones de las células reporteras de doble diana Jurkat Nur77-RFP que contenían células que expresaban los CAR αBCMA-αGPRC5D o αGPRC5D-αBCMA cuando BCMA o GPRC5D se eliminaron de las células OPM2. Estos resultados demuestran que las composiciones genomanipuladas de linfocitos T de doble diana que contienen formatos CAR αBCMA-αGPRC5D y αGPRC5D-αBCMA son capaces de mediar la activación incluso en ausencia de uno de los antígenos diana.

E. Secreción de citocinas en presencia de células KO BCMA o

GPRC5D

[000933] Para evaluar mejor los efectos de la pérdida de antígeno, se cultivaron células KO GPRC5D OPM2 WT, OPM2 o KO BCMA OPM2 en una proporción de 1:1 durante 24 horas con composiciones primarias de linfocitos T humanos, y se evaluó la secreción de citocinas mediante los linfocitos T. Las composiciones primarias de linfocitos T humanos contenían 1) células genomanipuladas para expresar solamente el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D), 2) solamente el CAR anti-BCMA (αBCMA), 3) células de doble diana que expresen ambos CAR mediante la transducción de construcciones bicistrónicas en los formatos αBCMA-αGPRC5D o αGPRC5D-αBCMA, o 4) células agrupadas genomanipuladas por separado para expresar el CAR anti-BCMA o el CAR anti-GPRC5D agrupados en una proporción de 1:1 de células que expresan CAR anti-BCMA a células que expresan CAR anti-GPRC5D (células agrupadas αGPRC5D y αBCMA). Las composiciones de linfocitos T transducidas de forma simulada funcionaron como controles.

[000934] Después del cocultivo con las células OPM2, se recolectaron los sobrenadantes para el análisis de las citocinas mediante el ensayo múltiplex Luminex®. Se evaluaron los niveles de secreción de IFNγ, IL-2, TNFα, tal como se muestra en las **figuras** 46A, 46B y 46C, respectivamente. No se observó una secreción de citocinas por parte de los linfocitos T que expresan solamente el CAR anti-GPRC5D

(GPRC5D) o solamente el CAR anti-BCMA (BCMA) cuando se cocultivaron con células OPM2 en las que GPRC5D o BCMA se eliminaron, respectivamente. Sin embargo, la secreción de citocinas se mantuvo en los linfocitos T en composiciones que contenían células de doble diana que expresaban los CAR αBCMA-αGPRC5D o αGPRC5D-αBCMA, y en las composiciones de células agrupadas αGPRC5D y αBCMA cuando se eliminaron GPRC5D o BCMA de las células OPM2. Estos resultados indican que las células de doble diana, en las que las células son cotransducidas con los formatos de CAR αBCMA-αGPRC5D o αGPRC5D-αBCMA o incluyen células agrupadas αGPRC5D y αBCMA, son capaces de secretar citocinas, a pesar de la ausencia de uno de los antígenos.

Ejemplo 23: Evaluación in vivo de las composiciones de células de doble diana que contienen células que expresan el CAR dirigido a GPRC5D y a BCMA

[000935] Se generó y utilizó un modelo de mieloma múltiple murino OPM2 para evaluar los efectos in vivo de las composiciones de linfocitos T que contienen 1) células genomanipuladas para expresar solamente el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D), 2) células genomanipuladas para expresar solamente el CAR anti-BCMA (αBCMA), 3) células de doble diana que expresen ambos CAR mediante la transducción de una construcción bicistrónica en el formato αGPRC5D-αBCMA, o 4) células agrupadas genomanipuladas por separado para expresar

el CAR anti-BCMA o el CAR anti-GPRC5D agrupados en una proporción de 1:1 de células que expresan CAR anti-BCMA a células que expresan CAR anti-GPRC5D (células agrupadas αGPRC5D y αBCMA).

A. Evaluación de composiciones de linfocitos T que expresan CAR anti-BCMA y anti-GPRC5D en un modelo de xenoinjerto murino de células OPM2

[000936] Se realizó un experimento en el que se trataron ratones NOD scid gamma (NSG™) con 3×10^6 linfocitos T primarios humanos totales a partir de composiciones que contenían 1) células que expresaban el CAR anti-BCMA (αBCMA), 2) células que expresaban el CAR anti-GPRC5D (αGPRC5D), 3) células de doble diana que generadas con una construcción bicistrónica que codificaban ambos CAR en el formato αGPRC5D-αBCMA, o 4) células agrupadas genomanipuladas por separado para expresar el CAR anti-BCMA o el CAR anti-GPRC5D agrupados en una proporción de 1:1 de células que expresan CAR anti-BCMA a células que expresan CAR anti-GPRC5D (células agrupadas αGPRC5D y αBCMA). Las composiciones de linfocitos T se administraron 14 días después de la inyección con composiciones de células OPM2. En este experimento, los ratones recibieron inyecciones de células 100 % OPM2 WT, 95 % OPM2 WT y 5 % OPM2 BCMA KO, o 95 % OPM2 WT y 5 % OPM2 GPRC5D KO. Como control, los ratones también se trataron con

composiciones simuladas de linfocitos T humanos primarios transducidos.

[000937] Como se muestra en la **figura** 47A, la carga tumoral según lo evaluado mediante BLI aumentó sustancialmente en los ratones inyectados no tratados y tratados de forma simulada que habían recibido 100 % de células WT OPM2. También se observaron aumentos en la carga tumoral a los 40 días en los ratones tratados con células que expresan solamente el CAR anti-BCMA. Por el contrario, como se muestra en la **figura** 47B, el tratamiento con una composición de linfocitos T que contiene células que expresan solamente el CAR anti-BCMA dio como resultado un aumento de la carga tumoral antes del día 20 en los ratones inyectados con 5 % de células OPM2 BCMA KO. De manera similar, los ratones tratados con una composición de linfocitos T que contiene células que expresan solamente el CAR anti-GPRC5D dieron como resultado un aumento de la carga tumoral antes del día 10 en ratones inyectados con 5 % de células KO OPM2 GPRC5D (**figura** 47C). Los ratones tratados con la composición que contiene células agrupadas αGPRC5D y αBCMA, así como los ratones tratados con la composición que contiene células de doble diana que expresan CAR de la construcción bicistrónica αGPRC5D-αBCMA, exhibieron aumentos relativamente mínimos en la carga tumoral hasta el día 60. Además, la carga tumoral de los ratones tratados con 5 % de células KO OPM2 GPRC5D se controló mejor con el tratamiento

con células que expresan la construcción bicistrónica αGPRC5D-αBCMA.

[000938] En este estudio, se observaron resultados similares a partir del análisis de la supervivencia de ratones después del día 80 de la inyección de linfocitos T después de CAR (**figura** 48). Tal como se muestra, la supervivencia disminuyó en los ratones inyectados con 5 % de células OPM2 GPRC5D KO y tratados solamente con células que expresan el CAR anti-GPRC5D. La supervivencia también disminuyó en los ratones inyectados con 5 % de células OPM2 BCMA KO y tratados solamente con células que expresan el CAR anti-BCMA. Los otros grupos de tratamiento exhibieron

[000939] No se propone que la presente invención se limite en alcance a las modalidades descritas particulares, que se proporcionan, por ejemplo, para ilustrar diversos aspectos de la invención. Varias modificaciones para las composiciones y métodos descritos llegarán a ser evidentes a partir de la descripción y las enseñanzas en la presente. Estas variaciones se pueden practicar sin desviarse del alcance y espíritu verdadero de la descripción y se propone que caigan dentro del alcance de la presente descripción.