

REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

1. Un vector que comprende una secuencia nucleotídica S1 que codifica un polipéptido de CD8 α , una secuencia nucleotídica S2 que codifica un polipéptido de CD8 β , una secuencia nucleotídica S3 que codifica un polipéptido de receptor de linfocito T (TCR) α , y una secuencia nucleotídica S4 que codifica un polipéptido de TCR β , en el cual las secuencias nucleotídicas están dispuestas en tándem en una orientación 5' a 3' y son seleccionadas entre S1-S2-S3-S4, S1-S2-S4-S3, S2-S1-S3-S4, S2-S1-S4-S3, S3-S4-S1-S2, S3-S4-S2-S1, S4-S3-S1-S2 y S4-S3-S2-S1. .

2. El vector de la reivindicación 1, en el cual las secuencias nucleotídicas están dispuestas en tándem en una orientación 5' a 3' y son seleccionadas entre S1-S2-S3-S4, S1-S2-S4-S3, S2-S1-S3-S4 y S2-S1-S4-S3.

3. El vector de la reivindicación 2, en el cual las secuencias nucleotídicas están dispuestas en tándem en una orientación 5' a 3' y corresponden a S2-S1-S4-S3.

El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el cual los polipéptidos de CD8 $\alpha\beta$ comprenden secuencias de aminoácidos que son idénticas al menos en un 90 % a la SEQ ID N.º 11 y al menos idénticas en un 90 % a la SEQ ID N.º 12.

5. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el cual los polipéptidos de TCR $\alpha\beta$ comprenden secuencias de aminoácidos que son idénticas al menos en un 90 % a las secuencias de aminoácidos seleccionadas entre las SEQ ID N.º 13 y 14, 15 y 16, 17 y 18, 19 y 20, 21 y 22, 23 y 24, 25 y 26, 27 y 28, 29 y 30, 31 y 32, 33 y 34, 35 y 36, 37 y 38, 39 y 40, 41 y 42, 43 y 44, 45 y 46, 47 y 48, 49 y 50, 51 y 52, 53 y 54, 55 y 56, 57 y 58, 59 y 60, 61 y 62, 63 y 64, 65 y 66, 67 y 68, 69 y 70, 71 y 72, 73 y 74, 75 y 76, 77 y 78, 79 y 80, 81 y 82, 83 y 84, 85 y 86, 87 y 88, o 89 y 90.

6. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el cual los polipéptidos de TCR $\alpha\beta$ comprenden unas secuencias de aminoácidos que son idénticas al menos en un 90 % a la SEQ ID N.º 13 y al menos idénticas en un 90 % a la SEQ ID N.º 14.
7. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que, además, comprende una secuencia nucleotídica S5, que codifica un péptido A2, y una secuencia nucleotídica S6, que codifica un péptido conector, en que S5 y S6 están ubicadas entre S1 y S2, S1 y S3, S1 y S4, S2 y S3, S2 y S4, y/o S3 y S4.
8. El vector de la reivindicación 7, en el cual el péptido 2A se selecciona entre P2A (SEQ ID N.º 3), T2A (SEQ ID N.º 4), E2A (SEQ ID N.º 5) o F2A (SEQ ID N.º 6).
9. El vector de la reivindicación 7 u 8, en el cual el péptido conector es GSG o SGSG (SEQ ID N.º 8).
10. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 que, además, comprende una secuencia nucleotídica S7, que codifica un péptido de furina (SEQ ID N.º 2), en el cual S7 está ubicada entre S1 y S2, S1 y S3, S1 y S4, S2 y S3, S2 y S4, y/o S3 y S4.
11. Un vector que comprende una primera secuencia nucleotídica S1, que codifica una proteína Z1, una segunda secuencia nucleotídica S2, que codifica una proteína Z2, una tercera secuencia nucleotídica S3, que codifica una proteína Y1, y una cuarta secuencia nucleotídica S4, que codifica una proteína Y2, en el cual Z1 y Z2 forman un primer dímero e Y1 y Y2 forman un segundo dímero, en el cual el primer dímero Z1Z2 es diferente estructuralmente del segundo dímero Y1Y2, y en el que el vector es un sistema de inserción génica destinado al uso en terapias celulares adoptivas.
12. El vector de la reivindicación 11, en el cual las secuencias S1, S2, S3 y S4 están dispuestas en tándem con una orientación 5' a 3' seleccionada entre S1-S2-S3-S4, S1-S2-S4-S3, S1-S3-S2-S4, S1-S3-S4-S2, S1-S4-S3-S2, S1-S4-S2-S3, S2-S1-S3-S4, S2-S1-S4-S3, S2-S3-S1-S4, S2-S3-S4-S1, S2-S4-S3-S1, S2-S4-S1-S3, S3-S1-S2-S4, S3-S1-S4-S2,

S3-S2-S1-S4, S3-S2-S4-S1, S3-S4-S1-S2, S3-S4-S2-S1, S4-S1-S2-S3, S4-S1-S3-S2, S4-S2-S1-S3, S4-S2-S3-S1, S4-S3-S1-S2 o S4-S3-S2-S1.

13. El vector de la reivindicación 11 o 12 que, además, comprende una quinta secuencia nucleotídica S5, que codifica un péptido A2, y una sexta secuencia nucleotídica S6, que codifica un péptido conector, en el cual S5 y S6 están ubicadas entre S1 y S2, S1 y S3, S1 y S4, S2 y S3, S2 y S4, y/o S3 y S4.

14. El vector de la reivindicación 13, en el cual el péptido 2A se selecciona entre P2A (SEQ ID N.º 3), T2A (SEQ ID N.º 4), E2A (SEQ ID N.º 5) o F2A (SEQ ID N.º 6).

15. El vector de la reivindicación 13 o 14, en el cual el péptido conector es GSG o SGSG (SEQ ID N.º 8).

16. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 15 que, además, comprende una séptima secuencia nucleotídica S7, que codifica un péptido de furina (SEQ ID N.º 2), en el cual S7 está ubicada entre S1 y S2, S1 y S3, S1 y S4, S2 y S3, S2 y S4, y/o S3 y S4.

17. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 16 que, además, comprende una secuencia de un elemento regulador postranscripcional (PRE) seleccionado entre un PRE del virus de la hepatitis de la marmota (WPRE) o un PRE del virus de la hepatitis B/VHB (HPRE).

18. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 17 que, además, comprende una secuencia promotora que controle la transcripción de las secuencias S2-S7, en que la secuencia promotora es seleccionada entre un promotor de citomegalovirus (CMV), promotor de la fosfoglicerato-cinasa (PGK), promotor de la proteína básica de la mielina (MBP), promotor de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), potenciador del virus del sarcoma mieloproliferativo portador de LTR MoMuLV modificado (MNDU3), promotor de la

ubiquitina C, promotor de EF-1 α o promotor del virus de las células madre murinas (MSCV).

19. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 18, en el cual el primer dímero Z1Z2 es seleccionado entre las SEQ ID N.º 13 y 14, 15 y 16, 17 y 18, 19 y 20, 21 y 22, 23 y 24, 25 y 26, 27 y 28, 29 y 30, 31 y 32, 33 y 34, 35 y 36, 37 y 38, 39 y 40, 41 y 42, 43 y 44, 45 y 46, 47 y 48, 49 y 50, 51 y 52, 53 y 54, 55 y 56, 57 y 58, 59 y 60, 61 y 62, 63 y 64, 65 y 66, 67 y 68, 69 y 70, 71 y 72, 73 y 74, 75 y 76, 77 y 78, 79 y 80, 81 y 82, 83 y 84, 85 y 86, 87 y 88, u 89 y 90.

20. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 19, en el cual el segundo dímero Y1 e Y2 corresponde a las SEQ ID N.º 11 y 12.

21. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 20, en el cual la orientación es S2-S1-S4-S3.

22. El vector de la reivindicación 21, que comprende la secuencia seleccionada entre PTE WPRE (SEQ ID N.º 91), TPE WPRE (SEQ ID N.º 92) o PTE fn WPRE (SEQ ID N.º 93).

23. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 20, en el cual la orientación es S4-S3-S2-S1.

24. El vector de la reivindicación 23, que comprende la secuencia PTE CD8 TCR WPRE (SEQ ID N.º 94).

25. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 24, que es un vector vírico seleccionado entre adenovirus, poxvirus, alfavirus, arenavirus, flavivirus, rhabdovirus, retrovirus, lentivirus, herpesvirus, paramixovirus o picornavirus.

26. El vector de la reivindicación 25, el cual es un vector pseudotipado con una proteína de la envoltura de un virus seleccionado entre el virus endógeno felino nativo (RD114), una

versión quimérica de la RD114 (RD114TR), virus de la leucemia del gibón (GALV), una versión quimérica de la GALV (GALV-TR), virus anfotrópico de la leucemia murina (MLV 4070A), baculovirus (GP64), virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), virus de la gripe aviar (FPV), virus del ébola (EboV), glucoproteína de la envoltura del retrovirus del papión (BaEV) o virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV).

27. Método para preparar linfocitos T destinados a inmunoterapia el cual comprende:
aislamiento de linfocitos T de una muestra de sangre de un sujeto humano,
activación de los linfocitos T aislados en presencia de un aminobisfosfonato,
transducción de los linfocitos T activados con el vector de cualquiera de las
reivindicaciones 11 a 26, y
expansión de los linfocitos T transducidos.

28. El método de la reivindicación 27, en el que los linfocitos T son aislados de una muestra humana obtenida por leucocitaféresis.

29. El método de la reivindicación 27 o 28, en el que el aminobisfosfonato es seleccionado entre ácido pamidróico, ácido alendróico, ácido zoledróico, ácido risedróico, ácido ibandróico, ácido incadróico, una sal de cualquiera de los anteriores y/o un hidrato de los mismos.

30. El método de cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29, en el cual la activación se lleva a cabo, además, en presencia de interleucina 2 (IL-2) recombinante humana y de interleucina 15 (IL-15) recombinante humana.

31. El método de cualquiera de las reivindicaciones 27 a 30, en el que la expansión se produce en presencia de IL-2 e IL-15.

32. El método de cualquiera de las reivindicaciones 27 a 31, en el que los linfocitos T son linfocitos T $\gamma\delta$.

33. El método de cualquiera de las reivindicaciones 27 a 32, en el que el primer dímero Z1Z2 y el segundo dímero Y1Y2 se coexpresan en la superficie de los linfocitos T expandidos.

34. Una población de linfocitos T expandidos preparada con el método de cualquiera de las reivindicaciones 27 a 32.

35. Un método para tratar a un paciente que padece cáncer, el cual comprende la administración al paciente de una composición que comprende la población de linfocitos T expandidos de la reivindicación 34.

en el cual los linfocitos T destruyen las células cancerosas en cuya superficie presentan un péptido formando un complejo con una molécula del MHC, péptido que es seleccionado entre las SEQ ID N.º 98 a 255, y en el que el cáncer es seleccionado entre el grupo consistente en cáncer de pulmón amicrocítico, cáncer de pulmón microcítico, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de útero, carcinoma de células de Merkel, cáncer de páncreas, cáncer de vesícula biliar, cáncer de las vías biliares, cáncer colorrectal, cáncer de la vejiga urinaria, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de ovario, cáncer de esófago, cáncer de cerebro, cáncer gástrico y cáncer de próstata.

36. El método de la reivindicación 35, en el cual la composición comprende además un adyuvante.

37. El método de la reivindicación 36, en el cual el adyuvante es seleccionado entre un anticuerpo anti-CD40, imiquimod, resiquimod, GM-CSF, ciclofosfamida, sunitinib, bevacizumab, atezolizumab, interferón- α , interferón- β , oligonucleótidos CpG y derivados, poli(I:C) y derivados, ARN, sildenafil, formulaciones particuladas con poli(láctido co-glicólido) (PLG), virosomas, interleucinas (IL)-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21 o IL-23.

38. Un método para desencadenar una respuesta inmunitaria en un paciente que padece cáncer, el cual comprende la administración al paciente de una composición que comprende la población de linfocitos T expandidos de la reivindicación 34.

en el cual los linfocitos T destruyen las células cancerosas en cuya superficie presentan un péptido formando un complejo con una molécula del MHC, péptido que es seleccionado entre las SEQ ID N.º 98 a 255, y en el que el cáncer es seleccionado entre el grupo consistente en cáncer de pulmón amicrocítico, cáncer de pulmón microcítico, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de útero, carcinoma de células de Merkel, cáncer de páncreas, cáncer de vesícula biliar, cáncer de las vías biliares, cáncer colorrectal, cáncer de la vejiga urinaria, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de ovario, cáncer de esófago, cáncer de cerebro, cáncer gástrico y cáncer de próstata.

39. El método de la reivindicación 38, en el cual la composición comprende además un adyuvante.

40. El método de la reivindicación 39, en el cual el adyuvante es seleccionado entre un anticuerpo anti-CD40, imiquimod, resiquimod, GM-CSF, ciclofosfamida, sunitinib, bevacizumab, atezolizumab, interferón- α , interferón- β , oligonucleótidos CpG y derivados, poli(I:C) y derivados, ARN, sildenafil, formulaciones particuladas con poli(láctido co-glicólido) (PLG), virosomas, interleucinas (IL)-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21 o IL-23.

41. El método de cualquiera de las reivindicaciones 38 a 40, en el cual la respuesta inmunitaria comprende una respuesta de linfocitos T citotóxicos.

42. Un método para preparar linfocitos T destinados a inmunoterapia, el cual comprende: activación de los linfocitos T en presencia de una estatina, transducción de los linfocitos T activados con el vector de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 26,

en el cual el vector es pseudotipado con una proteína de la envoltura del VSV-G,
y
expansión de los linfocitos T transducidos.

43. El método de la reivindicación 42, en el que los linfocitos T comprenden linfocitos T $\alpha\beta$, linfocitos T $\gamma\delta$ y/o linfocitos T citolíticos naturales (NKT).

44. El método de la reivindicación 42 o 43, en el cual la estatina es seleccionada entre atorvastatina, cerivastatina, dalvastatina, fluindostatina, fluvastatina, mevastatina, pravastatina, simvastatina, velostatina o rosuvastatina.

45. Un método para preparar linfocitos T destinados a inmunoterapia el cual comprende:
activación de los linfocitos T,
transducción de los linfocitos T activados con el vector de cualquiera de las
reivindicaciones 11 a 26, y
expansión de los linfocitos T transducidos.

46. El método de la reivindicación 45, en el que los linfocitos T comprenden linfocitos T $\alpha\beta$, linfocitos T $\gamma\delta$ y/o linfocitos T citolíticos naturales (NKT).

47. El método de la reivindicación 45 o 46, en el que los linfocitos T comprenden linfocitos T $\alpha\beta$.

48. El método de la reivindicación 47, en el que la activación se produce en presencia de un anticuerpo anti-CD3 y de un anticuerpo anti-CD28.

49. El método de las reivindicaciones 47 o 48, en el que la expansión se produce en presencia de IL-7 e IL-15.

50. Una población de linfocitos T expandidos preparada con el método de cualquiera de las reivindicaciones 42 a 49.

51. Un método para tratar a un paciente que padece cáncer, el cual comprende la administración al paciente de una composición que comprende la población de linfocitos T expandidos de la reivindicación 50.

en el cual los linfocitos T destruyen las células cancerosas en cuya superficie presentan un péptido formando un complejo con una molécula del MHC, péptido que es seleccionado entre las SEQ ID N.º 98 a 255,

y en el que el cáncer es seleccionado entre el grupo consistente en cáncer de pulmón amicrocítico, cáncer de pulmón microcítico, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de útero, carcinoma de células de Merkel, cáncer de páncreas, cáncer de vesícula biliar, cáncer de las vías biliares, cáncer colorrectal, cáncer de la vejiga urinaria, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de ovario, cáncer de esófago, cáncer de cerebro, cáncer gástrico y cáncer de próstata.