

RECEPTOR DE ANTÍGENO QUIMÉRICO (CAR) ANTI-HK2

LISTADO DE SECUENCIAS

La presente solicitud contiene un listado de secuencias que se presenta

- 5 electrónicamente en formato ASCII y que se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, creada el 30 de junio de 2020, se denomina JBI6124WOPCT1_SL.txt y su tamaño es de 562.160 bites.

CAMPO TÉCNICO

- 10 La invención se relaciona con receptores de antígenos quiméricos (CAR, por sus siglas en inglés) que se dirigen a hK2 que comprenden fragmentos variables de cadena única que se dirigen a hK2 y células inmunitarias que se dirigen a hK2 diseñadas por ingeniería que expresan los CAR. También se proporcionan ácidos nucleicos y vectores de expresión que codifican los CAR, células recombinantes
- 15 que contienen los vectores y composiciones que comprenden las células inmunitarias diseñadas por ingeniería que expresan los CAR que se dirigen a la hK2. También se proporcionan métodos para elaborar los CAR, y células inmunitarias diseñadas por ingeniería, y métodos para usar las células inmunitarias diseñadas por ingeniería para tratar condiciones que incluyen el cáncer.

20

ANTECEDENTES

El cáncer de próstata es el segundo cáncer diagnosticado con mayor frecuencia y la sexta causa principal de mortalidad del cáncer en varones, que representa

el 14 % (903.500) del total de nuevos casos de cáncer y el 6 % (258.400) del total de muertes por cáncer en los varones en todo el mundo. La evolución del cáncer de próstata desde el diagnóstico hasta la muerte se categoriza mejor como una serie de etapas clínicas basadas en la extensión de la enfermedad, el estado hormonal, y la ausencia o presencia de metástasis detectable:

5 enfermedad localizada, niveles aumentados de antígeno específico de próstata (PSA, por sus siglas en inglés) luego de la radioterapia o cirugía sin metástasis detectable, y metástasis clínica en la etapa de castrado o no castrado. Si bien la cirugía, la radiación, o una combinación de ambas puede ser curativa para

10 pacientes con la enfermedad localizada, una parte significativa de estos pacientes presentan una enfermedad recurrente, como lo demuestra el aumento del nivel de PSA, que puede conducir al desarrollo de metástasis, especialmente en el grupo de alto riesgo –una transición a la etapa letal de la enfermedad.

La terapia de reducción de andrógenos (TPA, por sus siglas en inglés) es el

15 tratamiento estándar con un resultado generalmente predecible: disminución en PSA, un periodo de estabilidad en el que el tumor no prolifera, seguido del aumento de PSA y el recrecimiento como enfermedad resistente a la castración. Históricamente, la TPA ha sido el estándar de atención para pacientes con cáncer de próstata metastásico.

20 La peptidasa relacionada con calicreína 2 (hK2, HK2) es una enzima similar a la tripsina con expresión impulsada por el receptor andrógeno (AR, por sus siglas en inglés) específico para el tejido prostático y el cáncer de próstata. La hK2 se activa mediante la proteasa transmembrana de serina 2 (TMPRSS2, por sus siglas en

inglés) y secreta en los conductos de la próstata, donde inicia una cascada que surca la semenogelina, la matriz extracelular en la eyaculación, para potenciar la motilidad del espermatozoide. La expresión de hK2 se restringe a la próstata y al tejido canceroso prostático; sin embargo, recientemente se ha demostrado que la hK2 era detectable en las líneas de cáncer de mama y las muestras primarias del paciente después de la activación adecuada del trayecto del AR mediante las hormonas de esteroides (publicación de patente de los EE. UU. núm. 2018/0326102). Similar al PSA, la liberación retrógrada de la hK2 catalíticamente inactiva en la sangre ocurre cuando la organización altamente estructurada de la próstata se compromete tras la hipertrofia o transformación maligna.

La terapia con células T usa células T aisladas que se han modificado genéticamente para mejorar su especificidad para un antígeno asociado al tumor específico. La modificación genética puede involucrar la expresión de un receptor de antígeno quimérico (CAR) o un receptor de células T exógeno para proporcionar una nueva especificidad de antígeno sobre la célula T. Las células T que expresan receptores de antígenos quiméricos (células CAR-T) pueden inducir la inmunorreactividad tumoral. Existe la necesidad de mejores terapias contra el cáncer que usen células CAR-T.

SUMARIO

En la presente descripción se describen receptores de antígenos quiméricos (CAR), p. ej., los CAR que se dirigen a una calicreína humana 2 (hK2), las células que comprenden los CAR, los vectores que codifican los CAR, p. ej., los vectores

de expresión recombinantes, y las moléculas de ácido nucleico que codifican los CAR, los métodos para elaborar los CAR, composiciones, polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, células huésped, poblaciones de células y métodos para tratar trastornos, p. ej., cáncer, que usan los CAR descritos.

5 En un aspecto se proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende:

(a) un dominio extracelular que comprende un scFv que se une específicamente al antígeno de calicreína humana 2 (hK2),

(b) un dominio transmembrana, y

10 (c) un dominio intracelular de señalización que comprende opcionalmente al menos un dominio coestimulador.

En algunas modalidades, el CAR comprende además

(d) una región bisagra CD8a;

15 en donde el dominio transmembrana comprende un polipéptido de la región transmembrana CD8a (CD8a-TM). y

20 en donde el dominio intracelular de señalización comprende un dominio coestimulador que comprende un componente del miembro 9 (CD137) de la superfamilia de receptores de TNF y un dominio de señalización primario que comprende un componente de la cadena zeta CD3 (CD3z) de glicoproteína de la superficie de células T.

En algunas modalidades, la región bisagra de CD8a comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a las sec. con núms. de ident.: 25, 269, 270, 271, o 272;

el dominio transmembrana comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 26; y/o

el dominio intracelular de señalización comprende un dominio coestimulador que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la sec. con
5 núm. de ident.: 27, y un dominio de señalización primario que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 28.

En otro aspecto se proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización, donde el dominio
10 extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 64, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia
15 de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 314, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 315, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la
20 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 309, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 310, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63,

5 una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72,

10 una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 86,

15 una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 87, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 88;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 92,

20 una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 93, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 94;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 103, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 106, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

10 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 107, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 108, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

15 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 110, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 111, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

20 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 112, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

5 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 114, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

10 115, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 116, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

15 118, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 119, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

20 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 123, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 124, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la
5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122,

donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2. En otro aspecto se proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización, donde el dominio
10 extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de
15 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de
20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 95, una
5 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 96, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una
10 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una
15 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una
20 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 127, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139,

donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno

5 comprende además:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de

10 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de

15 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de

20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 95, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 96, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una
5 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una
10 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una
15 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una
20 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139.

En otro aspecto se proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio

transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

un dominio variable de cadena ligera (VL, por sus siglas en inglés) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionados de las sec. con núms.

5 de ident.: 1, 2, 3, 74, 75, 147, 148, 149, 150, 151, 152 y 318; y/o

un dominio variable de cadena ligera (VH, por sus siglas en inglés) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionados de las sec. con núms.

de ident.: 4, 5, 6, 76, 77, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146 y 317;

en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno

10 de calicreína humana 2 (hK2).

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm.

15 de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena

pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 74 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 76;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 77;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 147 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 141;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 148 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 142;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 149 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 143;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 150 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 144;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 151 y una región

variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 145;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 152 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 146;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 318 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 317.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende un fragmento variable de cadena única (scFv, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, la scFv comprende un polipéptido enlazador entre la región variable de cadena ligera (VL) y la región variable de cadena pesada (VH). En algunas modalidades, el polipéptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 7. En algunas modalidades, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 8-23, 169-184 y 340-343.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende un polipéptido señal. En algunas modalidades, el polipéptido señal comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24.

En algunas modalidades, el dominio intracelular de señalización comprende un componente polipeptídico seleccionado del grupo que consiste en un

componente del miembro 9 (CD137) de la superfamilia de receptores de TNF, un componente de la cadena zeta de CD3 (CD3z) de la glicoproteína de la superficie de las células T, un componente del cúmulo de diferenciación (CD27), un componente del miembro de la superfamilia del cúmulo de diferenciación, y

5 una combinación de estos. En algunas modalidades, el componente CD137 comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27. En algunas modalidades, el componente CD3z comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28. En algunas modalidades, el dominio intracelular de señalización comprende una secuencia de aminoácidos

10 de la sec. con núm. de ident.: 45. En algunas modalidades, el dominio transmembrana comprende un polipéptido de la región transmembrana CD8a (CD8a-TM). En algunas modalidades, el polipéptido de la CD8a-TM comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26.

En varias modalidades, el CAR comprende además una región bisagra que

15 enlaza el dominio transmembrana con el dominio extracelular de unión al antígeno. En algunas modalidades, la región bisagra es una región bisagra CD8a. En algunas modalidades, la región bisagra CD8a comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núms. de ident.: 25, 269, 270, 271, o 272. En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno

20 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 29-44, 78-81, 221-236, y 273-308. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 46-61, 82-85 y 205-220.

En otro aspecto se proporciona un linfocito aislado que expresa cualquiera de los CAR descritos anteriormente. En algunas modalidades, el linfocito es un linfocito T. En algunas modalidades, el linfocito es una célula destructora natural (NK, por sus siglas en inglés).

- 5 También se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica cualquiera de los CAR descritos anteriormente. También se proporciona un vector que comprende la molécula de ácido nucleico. Además, también se proporciona una célula que expresa la molécula de ácido nucleico.

- Se proporciona además una composición farmacéutica que comprende una
10 cantidad eficaz de cualquiera de los linfocitos anteriores y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un CAR de acuerdo con la presente descripción para usarse en un método de terapia.

- En un aspecto, la presente descripción proporciona un linfocito de acuerdo con
15 la presente descripción para usarse en un método de terapia.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una composición, p. ej., una composición farmacéutica, de acuerdo con la presente descripción para usarse en un método de terapia.

- En un aspecto, la presente descripción proporciona un CAR de acuerdo con la
20 presente descripción para usarse en un método para tratar el cáncer.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un linfocito de acuerdo con la presente descripción para usarse en un método para tratar el cáncer.

En un aspecto, la presente descripción proporciona una composición, p. ej., una composición farmacéutica, de acuerdo con la presente descripción para usarse en un método para tratar el cáncer.

En una modalidad, el cáncer es cáncer de próstata.

- 5 En una modalidad, el cáncer es un receptor andrógeno (AR) que expresa cáncer de mama.

En otro aspecto se proporciona un método para tratar a un sujeto que tiene cáncer. El método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los linfocitos anteriores a un sujeto que lo necesita, mediante el
10 cual el linfocito induce la destrucción de células cancerosas en el sujeto. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de próstata. En algunas modalidades, el cáncer es un receptor andrógeno (AR) que expresa cáncer de mama.

En otro aspecto, se proporciona un método para la destrucción dirigida de una célula cancerosa, el método comprende poner en contacto la célula cancerosa
15 con cualquiera de los linfocitos anteriores, mediante el cual el linfocito induce la destrucción de la célula cancerosa. En algunas modalidades, la célula cancerosa es una célula de cáncer de próstata. En algunas modalidades, el cáncer es un receptor andrógeno (AR) que expresa cáncer de mama.

En otro aspecto se proporciona un método para detectar la presencia de cáncer
20 en un sujeto, que comprende:

- (a) poner en contacto una muestra de células obtenida del sujeto con cualquiera de los CAR anteriores, lo que forma, de esta manera, un complejo de células CAR, y

(b) detectar el complejo, en donde la detección del complejo es indicación de la presencia de cáncer en el sujeto.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 5 Lo anterior resultará evidente de la siguiente descripción más particular de modalidades ilustrativas, como se ilustra en las figuras adjuntas.
- Este expediente de la solicitud de patente contiene al menos una figura realizada a color. Las copias de esta solicitud de patente con figura(s) a color se proporcionarán mediante el Office tras solicitud y pago de la tasa necesaria.
- 10 Las **Figuras 1A-1C** muestran la construcción y expresión de CAR de hK2 en células T humanas. La **Figura 1A** muestra una ilustración esquemática del constructo para los CAR de hK2; TM: transmembrana. Las **Figuras 1B y 1C** muestran la expresión de CAR de hK2 en la superficie de las células T. Las células T humanas primarias se electroporaron sin ARNm (SIMULADO) o 10 µg
- 15 de ARNm que expresa ya sea un CAR de scFv de hK2 o CAR de control irrelevante. 24 horas después de la electroporación, la expresión de la superficie de CAR se midió mediante citometría de flujo después de la tinción con 2 µg/ml de proteína L biotinilada y PE conjugada con estreptavidina (**Figura 1B**) o hK2 biotinilada (1 µg/ml) y PE conjugada con estreptavidina (**Figura 1C**).
- 20 La **Figura 2** muestra la citotoxicidad de las células tumorales que expresan hK2 mediante células CAR-T en un ensayo basado en el flujo de 20 horas en la relación célula efectora a diana (E/T) indicada. 24 horas después de la transfección transitoria, las células diana (Vcap y DU145) se etiquetaron con tinte fluorescente

Cell Trace Violet (CTV) y, después, se cocultivaron con células CAR-T de hK2. Las células T simuladas sirvieron como controles efectores negativos. El porcentaje de destrucción es la relación del número absoluto de células (positivas CTV) diana (negativas de tinte de viabilidad) vivas que permanecen en el cocultivo en relación

5 con el número de objetivos vivos cultivados sin células CAR-T.

Las **Figuras 3A-3B** muestran citotoxicidad mediada por células CAR-T específicas de hK2 en tiempo real. El lote de índice de célula (IC) normalizado para células diana (**Figura 3A**) VCap (5E4) y (**Figura 3B**) DU145 (5E3) incubado con simulación, 10 µg de ARNm electroporaron (24 horas después de la transfección)

10 células CAR LH de 11B6 de hK2 o CAR-T de control en diferentes relaciones E:T durante aproximadamente 72 horas. Cuando se siembran solas, las células diana se adhieren a la placa y proliferan, lo que aumenta la lectura del IC. Cuando las células T se añadieron a las células diana, las células CAR- de hK2 y CAR-T de control causaron una citólisis de células VCap de hK2 (+) y la disminución

15 progresiva posterior en el IC en una relación E/T de 5:1 a 0,156:1. La reducción en el valor del IC después de la adición de células efectoras refleja la pérdida de viabilidad de células diana. También se realizó un experimento paralelo usando células diana DU145 de hK2(-), como se muestra en la (**Figura 3B**); en las relaciones E:T evaluadas en este experimento, las células de hK2 y CAR T de

20 control no redujeron el IC después de la adición que no mostró actividad citolítica. El eje Y es el IC normalizado generado por el software RTCA y mostrado en tiempo real. El eje X es el tiempo de cultivo celular y el tiempo de tratamiento en una hora. Los valores medios del IC se trazaron $\pm$ la desviación estándar.

La **Figura 4** muestra la producción de interferón γ (IFN- γ) de citocina Th1 de células CAR-T estimuladas con antígenos. El sobrenadante se recolectó del ensayo de destrucción basado en xCELLigence (ver las **Figuras 3A-3B**) aproximadamente 70 horas de cocultivo (VCap#5E4, DU145#5E3). Las células T

5 modificadas con CAR LH de hK2 y CAR de control secretan el IFN- γ durante el cocultivo con células VCap que expresan la hK2, pero no las células DU145 negativas de hK2. Se muestra la concentración media de IFN- γ $\pm$ la desviación estándar (pg/ml) de cultivos duplicados.

Las **Figuras 5A-5B** muestran que los clones de CAR de scFv estabilizados

10 térmicamente con 11B6 se evaluaron en el ensayo reportero de JNL para la actividad dependiente del antígeno. La **Figura 5A** muestra las células Jurkat que contienen el gen de luciferasa impulsado por el promotor de NFAT sensible a la señalización (denominadas células JNL) se transdujeron con los diversos

constructos de CAR de hK2. La expresión se determinó mediante la hK2 biotinilada

15 seguida de PE conjugada con estreptavidina. La **Figura 5B** muestra que la unión entre el constructo de CAR y su antígeno celular cognado (hK2 en células diana) conduce a la expresión de la luciferasa en las células JNL. Las células JNL que contienen los clones de CAR indicados y las células JNL no transducidas (UTD, por sus siglas en inglés) se cocultivaron con líneas de células diana (células VCap o

20 DU145) y la actividad de la luciferasa se midió como intensidad de luminiscencia. Los clones se consideraron activos cuando la intensidad de luminiscencia excedía 1,5 veces el nivel de células UTD en presencia de células que expresan antígenos.

La **Figura 6** muestra la expresión de CAR de hK2 en la superficie de las células T. Las células T humanas primarias se transdujeron con lentivirus de CAR basado en scFv originales y estabilizadas térmicamente con 11B6 (multiplicidad de infección (MOI, por sus siglas en inglés): 3) y la expresión de CAR se

5 determinó mediante hK2 biotinilada (1 µg/ml) seguida de PE conjugada con estreptavidina 14 días después de la transducción.

Las **Figuras 7A-7B** muestran que las células CAR-T de scFv estabilizadas térmicamente con 11B6 se evaluaron en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real para la citotoxicidad dependiente del antígeno. Las células CAR-T de

10 hK2 y CAR-T originales estabilizadas térmicamente con 11B6 se coincubaron con células VCaP (**Figura 7A**) y células PC3 (**Figura 7B**) durante 88 horas. La relación efectora a diana (E/T) se calculó basada en los datos de expresión de CAR (ver **Figura 6**). Las células diana expresaron establemente un tinte nuclear rojo que se midió mediante el sistema de imagenología IncuCyte de una manera

15 en tiempo real. Inhibición del crecimiento de células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables-número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%)

La **Figura 7C** muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento de células tumorales de células VCaP positivas de hK2 en una relación efectora:diana de

20 1:1 o 0,5:1 mediante células T transducidas con CAR1-10 o la 11B6_HL o 11B6_LH original en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real que evalúa la citotoxicidad dependiente del antígeno. Inhibición del crecimiento de

células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables-número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%)

La **Figura 7D** muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento de células tumorales de células de PC3 en una relación efectora:diana de 1:1 mediante

5 células T transducidas con CAR1-10 o la 11B6_HL o 11B6_LH original en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real que evalúa la citotoxicidad dependiente del antígeno. Inhibición del crecimiento de células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables-número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%).

10 La **Figura 7E** muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento de células tumorales de células VCaP positivas de hK2 mediante células CAR-T transducidas con CAR17 (B413HL en la Figura), CAR18 (B413LH en la Figura), CAR19 (B359HL en la Figura) y CAR20 (B359LH en la figura) en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real que evalúa la citotoxicidad dependiente del antígeno. Inhibición del

15 crecimiento de células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables-número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%)

La **Figura 7F** muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento de células tumorales de células DU145 negativas de hK2 mediante células CAR-T transducidas con CAR17 (B413HL en la Figura), CAR18 (B413LH en la Figura), CAR19 (B359HL en la Figura) y CAR20 (B359LH en la Figura) en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real que evalúa la citotoxicidad dependiente del antígeno. Inhibición del

20 crecimiento de células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables-número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%)

La **Figura 8** muestra la liberación de citocinas mediante las células lenti-CAR-T de hK2. El sobrenadante recolectado del cocultivo de la noche (aproximadamente 20 horas) de células CAR-T de hK2 con células VCap en una relación 1:1 de E/T se analizó usando el kit de células T de alta sensibilidad humanas 13-plex Milliplex (HSTCMAG28SPMX13). Las células T modificadas con el CAR de hK2 secretan citocinas durante el cocultivo con células VCap que expresan hK2, pero en un nivel mínimo para las células T no transducidas (UTD). Se muestra la concentración media de citocina $\pm$ la desviación estándar (pg/ml) de cultivos duplicados.

La **Figura 9** muestra la liberación del IFN- γ mediante las células lenti-CAR-T de hK2. El sobrenadante se recolectó del cocultivo de la noche (aproximadamente 20 horas) de células CAR-T de hK2 con células VCap, DU145 (células 5E4) en una relación 1:1 de E/T. Las células T modificadas con el CAR de hK2 secretan IFN- γ durante el cocultivo con células VCap que expresan hK2, pero no células DU145 negativas de hK2. Se muestra la concentración media de IFN- γ $\pm$ la desviación estándar (pg/ml) de cultivos duplicados. Las microesferas CD3/28 estimularon las células T y las células T solo se usaron como controles positivos y negativos, respectivamente.

Las **Figuras 10A-10E** muestran los resultados de un ensayo de proliferación de células CAR-T de hK2. (**Figuras 10A, 10C**) las células T no transducidas (UTD) y CAR de hK2 se etiquetaron con CellTrace Violet (CTV; 5 μ M) y se cocultivaron con células Vcap de hK2 (+) y DU145 de hK2 (-). Cinco días después del cocultivo, las células se cosecharon y tiñeron con CD3, CD25, tinte casi IR live/dead y CAR de hK2. El análisis citométrico de flujo se realizó en un citómetro de flujo Fortessa con el software Flowjo. Los linfocitos se identificaron

mediante CD3 vivas, y se determinaron las frecuencias de células CAR+T con dilución de tinte CTV y marcador de activación CD25. (**Figuras 10B, 10D**) las microesferas CD3/28 estimularon las células T y las células T solo se usaron como controles positivos y negativos, respectivamente. Los datos en la **Figura**

5 **10E** muestran que las células CAR+ T de hK2 proliferan con mayor robustez que el control positivo con microesferas CD3/28 después de 5 días de cocultivo con células VCap. Las células T diseñadas por ingeniería de los constructos de CAR diferentes tienen una actividad de proliferación diferente y mostraron conteos de células CAR+ T diferentes. Los conteos de células CAR+ T se basaron en el

10 conteo celular medio absoluto +/- SEM de tres replicaciones técnicas.

Las **Figuras 11A-11B** muestran los resultados de ensayos para determinar el nivel de expresión de los CAR de hK2 en células T primarias usando la proteína de hK2 etiquetada con biotina. La **Figura 11A** es una ilustración esquemática del constructo para los CAR de hK2; TM: transmembrana. En la **Figura 11B**, las

15 células T humanas primarias se transdujeron con scFv de hK2 nuevas basadas en el lentivirus de KL2B413 HL y LH y de CARS de KL2B359 HL y LH de 11B6 rehumanizados (MOI 3) y la expresión de CAR se determinó mediante la hK2 biotinilada (1 ug/ml) seguido de PE conjugada con estreptavidina 14 días después de la transducción. La **Figura 11B** proporciona un resumen del porcentaje de

20 células CAR+T de hK2 (% positivo) detectado por CARS de KL2B413 HL y LH novedosos y de KL2B359 HL y LH analizados rehumanizados con 11B6. Como se muestra, los diferentes clones tienen diferente nivel de expresión de CAR; varía

de 45,1 % a 59,9 %. Todas las células CAR+ T se normalizaron con las células CAR+ T iguales para ensayos funcionales posteriores.

Las **Figuras 12A-12B** muestran los resultados de la evaluación de clones de KL2B413 de hK2 novedosos y de CAR rehumanizados con 11B6 en el ensayo

5 reportero de JNL para la actividad dependiente del antígeno. En la **Figura 12A**, las células Jurkat que contienen el gen de luciferasa impulsado por el promotor de NFAT sensible a la señalización (denominadas células JNL) se transdujeron con los diversos constructos de CAR de hK2. La expresión se determinó mediante la hK2 biotinilada seguida de PE conjugada con estreptavidina. La expresión de CAR en

10 células JNL transducidas se confirmó para los clones seleccionados con 46-50 % de expresión de células en CAR de KL2B359 de 11B6 rehumanizados y 73,7-96 % de células en CAR de KL2B413. Los datos mostrados en la **Figura 12B** indican que la unión entre el constructo de CAR de hK2 y su antígeno celular cognado (hK2 en células diana) conducen a la expresión de la luciferasa en las células JNL. Las

15 células JNL que contienen los clones de CAR indicados y las células JNL (UTD) se cocultivaron con líneas de células diana (células Vcap, LNCap/Hk2, LNCap, C4-2B, 22Rv1o DU145) y la actividad de la luciferasa se midió como intensidad de luminiscencia. Los clones se consideraron activos cuando la intensidad de luminiscencia excedía 1,5 veces el nivel de células UTD en presencia de células

20 que expresan antígenos. No se descubrió ninguna activación dependiente del antígeno para los CAR de KL2B413 nuevos y HL y LH de 11B6 rehumanizados. Las **Figuras 13A-13B** muestran los resultados de una evaluación de células CAR-T de HK2 en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real para la

citotoxicidad dependiente del antígeno. Las células CAR-T de HK2 se
 coincidieron con células VCaP de HK2+ (**Figura 13A**) y células DU145 de HK2-
 (**Figura 13B**) durante 96 horas. La relación efectora a diana (ET) se calculó
 basada en los datos de expresión de CAR (**Figura 11B**). Las células diana
 5 expresaron establemente un tinte nuclear rojo que se midió mediante el sistema
 de imagenología IncuCyte de una manera en tiempo real. Inhibición del
 crecimiento de células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables-
 número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%)
 La **Figura 14** ilustra los datos que muestran la producción de IFN-gamma de la
 10 citocina Th1 de células CAR-T estimuladas con antígeno. El IFN-γ producido por
 células T citotóxicas es esencial para ejercer la vigilancia inmunitaria de los
 tumores, que puede inhibir directamente la proliferación e inducir la apoptosis de
 algunas malignidades *in vivo* e *in vitro*. Para determinar si las células T humanas
 modificadas con el CAR de Hk2 pudieron reconocerse y activarse mediante las
 15 células tumorales de hK2 (+), las células T primarias que contienen los clones de
 CAR indicados y controlar las células T no transducidas (UTD) se cocultivaron con
 líneas de células diana (células LNCap/Hk2, LNCap, C4-2B, 22Rv1 o DU145) y se
 recolectó sobrenadante para la medición de la concentración de IFN-g. Como se
 muestra, las células T modificadas con el CAR de hK2 secretan el IFN-gamma
 20 durante el cocultivo con células LNCap/hK2 que expresan hK2, incluso células
 C4-2B y LNCap que expresan Hk2 muy baja pero no células DU145 de hK2
 negativa. El CAR de control no descrito secretó una cantidad mucho mayor de

IFN- γ y debido al nivel de expresión de antígeno mucho mayor que hK2. Se muestra la concentración media de IFN- γ $\pm$ SD (pg/ml) de cultivos duplicados.

La **Figura 15** muestra los resultados de un ensayo de desgranulación de CD107a para evaluar la actividad antitumoral de las células CAR-T de hK2. Las células diana (5×10^4) se cocultivaron con un número igual de células efectoras en 0,1 ml por pocillo en una placa de 96 pocillos. Los pocillos de control contenían células T solas. Se añadió anti-CD107a (5 μ l por pocillo) además de 1 μ l/muestra de monensina (BD Biosciences) y se incubó durante 4 horas a 37 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS, se tiñeron para la expresión del CAR de hK2, CD3 y CD8 y se analizaron en un citómetro de flujo BD Fortessa. Como se muestra, la presencia de antígeno de hK2 en células Vcap conduce a un aumento en las células CAR(+) T de hK2 de CD107A+, pero no en células T UTD y CAR(-) de hK2 medidas por citometría de flujo, mientras que solo la tinción de fondo (< 2 %) se vio en las células CAR-T solo sin estimulación de las células tumorales. El forbol 12-miristato 13-acetato (PMA, por sus siglas en inglés) en combinación con la ionomicina (cóctel de estimulación celular de eBioscience™; 500 X) fue un inductor consistente de la expresión de la superficie de células CD107a en este modelo de cultivo celular de 4 horas, que se usó como un control positivo. Los resultados se muestran para las células T donantes representativas y son reproducibles en múltiples donantes.

Las **Figuras 16A-16D** muestran los resultados de un ensayo de proliferación de células CAR-T de hK2. Las células T no transducidas (UTD) y de CAR de hK2 se etiquetaron con CellTrace Violet (CTV; 5 μ M) y se cocultivaron con células Vcap de

HK2 (+) y DU145 de HK2 (-). Cinco días después del cocultivo, las células se cosecharon y tiñeron con CD3, CD25, tinte casi IR live/dead y CAR de hK2. El análisis citométrico de flujo se realizó en un citómetro de flujo Fortessa con el software Flowjo. Los linfocitos se identificaron mediante CD3 vivas, y se

5 determinaron las frecuencias de células CAR+T con dilución de tinte CTV y marcador de activación CD25. Mediante la selección de células T CD3+, como se muestra en las **Figuras 16A-16B**, las células Vcap de hK2(+) pero no células DU145 de hK2(-) promovieron la proliferación de todas las células T diseñadas por ingeniería de constructos de CAR y la regulación en ascenso del marcador de activación CD25,

10 como se muestra en la **Figuras 16C-16D**. Las microesferas CD3/28 estimularon las células T y las células T solo se usaron como controles positivos y negativos, respectivamente. Las células T solo sin ninguna estimulación no proliferan, y las células T estimuladas con microesferas CD3/28 mostraron un patrón de proliferación equivalente. Como se muestra, las células CAR+ T de hK2 proliferan con mayor

15 robustez que el control positivo de microesferas de CD3/28 después de 5 días de cocultivo con células VCap. Las células T diseñadas por ingeniería de los constructos de CAR diferentes tienen una actividad de proliferación diferente y mostraron conteos de células CAR+ T diferentes. El resumen del porcentaje de células T en proliferación y células T que expresan CD25 basado en el conteo celular medio absoluto +/- SEM

20 por duplicado se muestra en las **Figuras 16B y 16D**.

La **Figura 17A** muestra la alineación de secuencias de los dominios VH de mu11B6, hu11B6, KL2B357, KL2B358, KL2B359, KL2B360, HCF3 y HCG5. La Figura 17A describe las sec. con núms. de ident. 317, 5, 140, 141, 77, 140, 6, 4 y

345, respectivamente, en orden de aparición. La **Figura 17B** muestra los segmentos protegidos mapeados sobre la secuencia del antígeno de hK2 para visualizar los epítomos de unión de los anticuerpos de hK2 identificados a través de HDX-MS. La Figura 17B describe las sec. con núms. de ident. 351, 351, 351, 5 351, 351 y 351, respectivamente, en orden de presentación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

A continuación se presenta una descripción de modalidades ilustrativas.

La presente descripción proporciona receptores de antígeno quimérico (CAR) que dirigen una calicreína humana 2 (hK2), células que comprenden tales CAR, y métodos para tratar el cáncer (p. ej., cáncer de próstata o cáncer de mama que expresan AR) usando los CAR descritos en la presente descripción.

Los CAR de la invención tienen una especificidad de antígeno para hK2. Las frases “tener especificidad de antígenos” y “provocar una respuesta específica al antígeno”, como se usan en la presente descripción, significan que el CAR puede unirse específicamente a y reconocer inmunológicamente un antígeno, de tal manera que la unión del CAR al antígeno de hK2 provoca una respuesta inmune. Los métodos para evaluar los CAR para la especificidad del antígeno y para la capacidad de reconocer las células diana se conocen en la técnica.

La descripción también proporciona ácidos nucleicos relacionados, vectores de expresión recombinantes, células huésped, poblaciones de células, anticuerpos o porciones de unión al antígeno de estos y composiciones farmacéuticas que se relacionan con los CAR de la invención.

Varios aspectos de la invención se describen más abajo, con referencia a ejemplos solo para propósitos ilustrativos. Debe entenderse que se exponen numerosos detalles, relaciones y métodos específicos para proporcionar un entendimiento total de la invención. Sin embargo, un experto en la técnica relevante reconocerá fácilmente que la invención puede practicarse sin uno o más de los detalles específicos o practicarse con otros métodos, protocolos, reactivos, líneas celulares

y animales. La presente invención no se limita mediante el orden ilustrado de actos o eventos, a medida que algunos actos pueden ocurrir en diferentes órdenes y/o simultáneamente con otros actos o eventos. Además, no se requieren todos los actos, etapas o eventos ilustrados para implementar una metodología de acuerdo con la presente invención. Muchas de las técnicas y procedimientos descritos, o mencionados en la presente descripción, son bien entendidos y usados comúnmente usando una metodología convencional por los expertos en la técnica. A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos de la técnica, anotaciones y otros términos o terminología científica usada en la presente descripción pretenden tener los significados comúnmente entendidos por los expertos en la técnica a la que pertenece esta invención. En algunos casos, los términos con significados comúnmente entendidos se definen en la presente descripción para claridad y/o para referencia rápida, y la inclusión de tales definiciones en la presente descripción no debe interpretarse necesariamente para representar una diferencia sustancial sobre el cual se entiende generalmente en la técnica. Se entenderá además que los términos, tales como los definidos en diccionarios usados comúnmente, deben interpretarse como que tienen un significado que es consistente con su significado en el contexto de la técnica relevante y/o como se definen de cualquier otra manera en la presente descripción.

Cuando se presenta una lista, a menos que se establezca de cualquier otra manera, debe comprenderse que cada elemento individual de esa lista, y cada combinación de esa lista, es una modalidad separada. Por ejemplo, una lista de

modalidades que se presenta como “A, B, o C”, debe interpretarse como que incluye las modalidades, “A”, “B”, “C”, “A o B”, “A o C”, “B o C”, o “A, B o C”.

Definiciones

- 5 Como se usa en esta especificación y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes en plural a menos que el contexto determine claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a “una célula” incluye una combinación de dos o más células y lo similar.
- Los términos transicionales “que comprende”, “que consiste esencialmente en” y
- 10 “que consiste en” pretenden connotar sus significados generalmente aceptados en el lenguaje de patentes; es decir, (i) “que comprende”, que es sinónimo de “que incluye”, “que contiene” o “caracterizado por”, es inclusivo o abierto y no excluye etapas o elementos no enumerados adicionales del método; (ii) “que consiste en” excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en la reivindicación;
- 15 y (iii) “que consiste esencialmente en” limita el alcance de una reivindicación a las etapas o materiales especificados “y los que no afectan materialmente la(s) característica(s) básica(s) y novedosa(s)” de la invención reivindicada. Las modalidades descritas en términos de la frase “que comprende” (o sus equivalentes) también proporcionan como modalidades las que se describen independientemente
- 20 en términos de “que consiste en” y “que consiste esencialmente en”.
- “Activación” o “estimulación” o “activada/o” o “estimulada/o” se refiere a la inducción de un cambio en el estado biológico de una célula que resulta en la expresión de marcadores de activación, producción de citocinas, proliferación o

mediación de citotoxicidad de células diana. Las células pueden activarse mediante señales estimuladoras primarias. Las señales coestimuladoras pueden amplificar la magnitud de las señales primarias y suprimir la muerte celular después de la estimulación inicial, lo que resulta en un estado de activación más durable y, por lo tanto, una capacidad citotóxica mayor. Una “señal coestimuladora” se refiere a una
5 señal, que en combinación con una señal primaria, tal como la ligación TCR/CD3, conduce a la proliferación de células T y/o células NK y/o la regulación en ascenso o regulación en descenso de moléculas clave.

“Fragmento de unión al antígeno” o “dominio de unión al antígeno” se refiere a
10 una porción de la proteína que se une a un antígeno. Los fragmentos de unión al antígeno pueden ser polipéptidos sintéticos, enzimáticamente obtenibles o modificados genéticamente e incluyen porciones de una inmunoglobulina que se une al antígeno, tal como la VH, la VL, la VH y la VL, los fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fd y Fv, los anticuerpos de dominio (dAb, por sus siglas en inglés) que
15 consisten en un dominio VH o un dominio VL, dominios IgNAR variables de tiburón, dominios VH camelizados, dominios VHH, unidades de reconocimiento mínimas que consisten en los residuos de aminoácidos que imitan los CDR de un anticuerpo, tales como las porciones de FR3-CDR3-FR4, la HCDR1, la HCDR2 y/o la HCDR3 y la LCDR1, la LCDR2 y/o la LCDR3, supercántigos alternativos
20 que se unen a un antígeno, y proteínas multiespecíficas que comprenden los fragmentos de unión al antígeno. Los fragmentos de unión al antígeno (tal como VH y VL) pueden enlazarse entre sí a través de un enlazador sintético para formar varios tipos de diseños de anticuerpos simples donde los dominios VH/VL pueden

aparearse intramolecularmente, o intermolecularmente en los casos en que los dominios VH y VL se expresan mediante cadenas simples separadas, para formar un dominio de unión al antígeno monovalente, tal como un Fv de cadena simple (scFv) o un diacuerpo. Los fragmentos de unión al antígeno también pueden
5 conjugarse a otros anticuerpos, proteínas, fragmentos de unión al antígeno o supercóntigos alternativos que pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos para diseñar por ingeniería proteínas biespecíficas y multiespecíficas.

“Cáncer” se refiere a un amplio grupo de diversas enfermedades caracterizadas por el crecimiento no controlado de células anormales en el cuerpo. La división y
10 el crecimiento celular no regulados dan como resultado la formación de neoplasias que invaden los tejidos cercanos y también pueden metastizar a partes distantes del cuerpo a través del sistema linfático o el torrente sanguíneo. Un “cáncer” o “tejido canceroso” puede incluir un tumor.

El “anticuerpo de longitud completa” comprende dos cadenas pesadas (HC, por sus siglas en inglés) y dos cadenas ligeras (LC, por sus siglas en inglés)
15 interconectadas por enlaces de disulfuro así como multímeros de estas (p. ej., IgM). Cada cadena pesada está compuesta por un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio constante de cadena pesada, el dominio constante de cadena pesada está compuesto por los subdominios CH1, bisagra, CH2 y CH3.
20 Cada cadena ligera está compuesta por un dominio variable de cadena ligera (VL) y un dominio constante de cadena ligera (CL, por sus siglas en inglés). La VH y la VL pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR, por sus

siglas en inglés), intercaladas con regiones marco (FR, por sus siglas en inglés).

Cada VH y VL se compone de tres CDR y cuatro segmentos de FR, dispuestos desde el extremo amínico al extremo carboxílico en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4.

- 5 “Anticuerpo humano” se refiere a un anticuerpo que está optimizado para tener una mínima respuesta inmune cuando se administra a un sujeto humano. Las regiones variables del anticuerpo humano se derivan de secuencias de inmunoglobulina humana. Si el anticuerpo humano contiene una región constante o una porción de la región constante, la región constante también se deriva de
- 10 secuencias de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humano comprende regiones variables de cadena pesada y ligera que se “derivan de” secuencias de origen humano si las regiones variables del anticuerpo humano se obtienen de un sistema que usa inmunoglobulina de línea germinal humana o genes de inmunoglobulina reorganizados. Tales sistemas ilustrativos son bibliotecas de
- 15 genes de inmunoglobulina humana presentadas en fagos y animales transgénicos no humanos, tales como ratones o ratas que portan loci de inmunoglobulina humana. El “anticuerpo humano” contiene, típicamente, diferencias de aminoácidos en comparación con las inmunoglobulinas expresadas en humanos debido a las diferencias entre los sistemas usados para obtener el anticuerpo
- 20 humano y los loci de inmunoglobulina humana, la introducción de mutaciones somáticas o la introducción intencional de sustituciones en los marcos o las CDR, o ambos. Típicamente, el “anticuerpo humano” es al menos aproximadamente 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de la inmunoglobulina humana.

93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % idéntico en la secuencia de aminoácidos a una secuencia de aminoácidos codificada por inmunoglobulina de línea germinal humana o genes de inmunoglobulina reorganizados. En algunos casos, el “anticuerpo humano” puede contener secuencias de marco de consenso derivadas del análisis de secuencias de marco humanas, por ejemplo, como se describe en Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57-86, o una HCDR3 sintética incorporada en bibliotecas de genes de inmunoglobulina humana presentadas en fagos, por ejemplo, como se describe en Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385-96, y en la publicación de patente internacional núm. WO2009/085462. Los anticuerpos en los cuales al menos una CDR se deriva de una especie no humana no se incluyen en la definición de “anticuerpo humano”.

“Anticuerpos humanizados” se refiere a un anticuerpo en el cual al menos una CDR se deriva a partir de especies no humanas y al menos un marco se deriva a partir de secuencias de inmunoglobulinas humanas. El anticuerpo humanizado puede incluir sustituciones en los marcos de manera que los marcos no puedan ser copias exactas de las secuencias génicas de línea germinal de inmunoglobulina humana o inmunoglobulina humana expresada.

“Aislada” se refiere a una población homogénea de moléculas (tales como polinucleótidos o polipéptidos sintéticos) que se ha separado y/o purificado sustancialmente de otros componentes del sistema en los que las moléculas se producen, tal como una célula recombinante, así como una proteína que se ha sometido a al menos una etapa de aislamiento o purificación. “**Aislado**” se refiere a una molécula que está sustancialmente exenta de otro material celular y/o

sustancias químicas y abarca moléculas que están aisladas a una pureza más alta, tal como a 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de pureza.

“Modular” se refiere a la capacidad potenciada o disminuida de una molécula de

5 prueba para mediar una respuesta potenciada o reducida (es decir, efecto corriente abajo) cuando se compara con la respuesta mediada por un control o un vehículo.

“Célula destructora natural” y “célula NK” se usan indistintamente y como sinónimos en la presente descripción. Célula NK se refiere a un linfocito diferenciado con un fenotipo TCR⁻ CD16⁺ CD56⁺ y/o CD57⁺. Las células NK se caracterizan por su

10 capacidad de unirse a y destruir células que no logran expresar antígenos “propios” MHC/HLA mediante la activación de enzimas citolíticas específicas, la capacidad de destruir células tumorales u otras células enfermas que expresan un ligando para receptores de activación de NK, y la capacidad de liberar moléculas de proteína denominadas citocinas que estimulan o inhiben la respuesta inmunitaria.

15 “Se une específicamente”, “unión específica”, “que se une específicamente” o “se une” se refiere a una molécula proteica que se une a un antígeno o a un epítipo dentro del antígeno con mayor afinidad que a otros antígenos. Típicamente, la molécula proteica se une al antígeno o al epítipo dentro del antígeno con una constante de disociación de equilibrio (K_D) de aproximadamente 1×10^{-7} M o menos, por ejemplo, aproximadamente 5×10^{-8} M o menos, aproximadamente 1×10^{-8} M o menos, aproximadamente 1×10^{-9} M o menos, aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, aproximadamente 1×10^{-11} M o menos, o aproximadamente 1×10^{-12} o menos, típicamente con la K_D que es al menos cien veces menor que su K_D para la

20

unión a un antígeno no específico (p. ej., BSA, caseína). En el contexto de los neoantígenos prostáticos descritos en la presente descripción, “unión específica” se refiere a la unión de la molécula proteica al neoantígeno prostático sin unión detectable a una proteína de tipo silvestre de la que el neoantígeno es una variante.

- 5 Una “célula tumoral” o una “célula cancerosa” se refiere a una célula cancerosa, precancerosa o transformada, ya sea *in vivo*, *ex vivo* o en cultivo de tejido, que tiene cambios fenotípicos espontáneos o inducidos. Estos cambios no implican necesariamente la captación de nuevo material genético. Si bien la transformación puede surgir de la infección con un virus transformante y la
- 10 incorporación de un ácido nucleico genómico nuevo, la captación de ácido nucleico exógeno o esta también puede surgir espontáneamente o después de la exposición a un carcinógeno, de esta manera, muta a un gen endógeno. La transformación/cáncer se ejemplifica mediante cambios morfológicos, inmortalización de células, control de crecimiento aberrante, formación de focos,
- 15 proliferación, neoplasia, modulación de niveles de marcadores tumorales específicos, invasividad, crecimiento tumoral en huéspedes animales adecuados, tales como ratones desnudos y lo similar, *in vitro*, *in vivo* y *ex vivo*: El término “receptor de antígeno quimérico” o “CAR”, como se usa en la presente descripción, se define como un receptor de superficie celular que comprende un
- 20 dominio de unión al objetivo extracelular, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización, todos en una combinación que no se encuentra naturalmente junta en una proteína única. Particularmente, esto incluye receptores en donde el dominio extracelular y el dominio intracelular de señalización no se

encuentra naturalmente juntos en una proteína receptora única. Los receptores de antígeno quimérico de la presente invención se pretenden usar, principalmente, con linfocitos tales como células T y células destructoras naturales (NK).

Los términos “célula T” y “linfocito T” son intercambiables y se usan como
5 sinónimos en la presente descripción. Como se usa en la presente descripción, la célula T incluye timocitos, linfocitos T vírgenes, linfocitos T inmaduros, linfocitos T maduros, linfocitos T en reposo o linfocitos T activados. Una célula T puede ser una célula T cooperadora (Th, por sus siglas en inglés), por ejemplo, una célula T cooperadora 1 (Th1) o una célula T cooperadora 2 (Th2). La célula
10 T puede ser una célula T cooperadora (HTL; célula T CD4+) célula T CD4+, una célula T citotóxica (CTL; célula T CD8+), una célula T citotóxica infiltrante de tumor (TIL; célula T CD8+), célula T CD4+CD8+, o cualquier otro subconjunto de células T. Otras poblaciones ilustrativas de células T adecuadas para usarse en modalidades particulares incluyen células T vírgenes y células T de memoria.
15 Además, se incluyen “células NKT”, que se refieren a una población especializada de células T que expresan un receptor de células T $\alpha\beta$ semiinvariante, pero además expresan una variedad de marcadores moleculares que se asocian, típicamente, con células NK, tales como NK1.1. Las células NKT incluyen células NK1.1+ y NK1.1-, así como células CD4+, CD4-, CD8+ y
20 CD8-. El TCR en las células NKT es único en cuanto a que reconoce antígenos glicolípidos presentados por la molécula de tipo MHC I CD Id. Las células NKT pueden tener efectos protectores o perjudiciales debido a sus capacidades para producir citocinas que promueven la inflamación o la tolerancia inmune. También

se incluyen “células T gamma-delta (células T $\gamma\delta$)”, que se refieren a una población especializada como a un pequeño subconjunto de células T que poseen un TCR distinto en su superficie, y a diferencia de la mayoría de las células T en las que el TCR se compone de dos cadenas de glicoproteínas denominadas cadenas TCR- α y TCR- β , el TCR en las células T $\gamma\delta$ está compuesto de una cadena γ y una cadena δ . Las células T $\gamma\delta$ pueden desempeñar un papel en la inmunovigilancia e inmunorregulación, y se descubrió que son una fuente importante de IL-17 e inducen una respuesta robusta de células T citotóxicas CD8+. También se incluyen “células T reguladoras” o “Treg” que se refieren a células T que suprimen una respuesta inmunitaria anormal o excesiva y desempeñan un papel en la tolerancia inmune. Las Treg son típicamente células T CD4+ positivas Foxp3 para el factor de transcripción y también pueden incluir células T reguladoras negativas Foxp3 para el factor de transcripción que son células T CD4+ que producen IL-10.

Los términos “célula destructora natural” y “célula NK” son intercambiables y se usan como sinónimos en la presente descripción. Como se usa en la presente descripción, célula NK se refiere a un linfocito diferenciado con un fenotipo TCR-CD 16+ CD56+ y/o CD57+. Las células NK se caracterizan por su capacidad de unirse a y destruir células que no logran expresar antígenos “propios” MHC/HLA mediante la activación de enzimas citolíticas específicas, la capacidad de destruir células tumorales u otras células enfermas que expresan un ligando para receptores de activación de NK, y la capacidad de liberar moléculas de proteína denominadas citocinas que estimulan o inhiben la respuesta inmunitaria.

Como se usa en la presente descripción, el término “antígeno” se refiere a cualquier agente (p. ej., proteína, péptido, polisacárido, glicoproteína, glicolípido, ácido nucleico, porciones de estos o combinaciones de estos) molécula capaz de unirse mediante un receptor de células T. Un antígeno también puede

5 provocar una respuesta inmunitaria. Un ejemplo de una respuesta inmunitaria puede involucrar, sin limitarse a, la producción de anticuerpos o la activación de células específicas inmunológicamente competentes, o ambas. Un experto en la técnica comprenderá que un antígeno no necesita codificarse mediante un “gen” en absoluto. Es fácilmente evidente que un antígeno puede generarse,

10 sintetizarse o puede derivarse de una muestra biológica, o podría ser una macromolécula además de un polipéptido. Tal muestra biológica puede incluir, pero no se limita a, una muestra de tejido, una muestra tumoral, una célula o un fluido con otros componentes biológicos, organismos, subunidades de proteínas/antígenos, todas las células o lisados destructoras o inactivadas.

15 Los términos “anticuerpo” y “anticuerpos” se refieren a anticuerpos monoclonales, anticuerpos multiespecíficos, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, Fv de cadena única (scFv), anticuerpos de cadena única, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), Fv unidos por disulfuro (sdFv, por sus siglas en inglés), intracuerpos, minicuerpos, diacuerpos, y anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id),

20 (incluidos, p. ej., anticuerpos anti-Id para un TCR de antígeno específico), y fragmentos de unión al epítipo de cualquiera de los anteriores. Los términos “anticuerpo” y “anticuerpos” también se refieren a diacuerpos covalentes tales como los descritos en la solicitud de patente de los EE. UU. núm. 2007/0004909 e

Ig-DARTS tales como las descritas en la solicitud de patente de los EE. UU. núm. 2009/0060910 Los anticuerpos útiles como moléculas de unión a TCR incluyen moléculas de inmunoglobulina y fragmentos inmunológicamente activos de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un parátipo. Las

5 moléculas de inmunoglobulina pueden ser de cualquier tipo (p. ej., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM2, y IgA2) o subclase. El término “célula huésped” significa cualquier célula que contiene un ácido nucleico heterólogo. El ácido nucleico heterólogo puede ser un vector (p. ej., un vector de expresión). Por ejemplo, una célula huésped puede ser una célula de cualquier

10 organismo que se selecciona, modifica, transforma, se hace crecer, se usa o manipula de cualquier forma, para la producción de una sustancia por la célula, por ejemplo, la expresión por parte de la célula de un gen, una secuencia de ADN o ARN, una proteína o una enzima. Puede determinarse un huésped adecuado. Por ejemplo, la célula huésped puede seleccionarse basada en la cadena principal del

15 vector y el resultado deseado. A manera de ejemplo, un plásmido o cósmido puede introducirse en una célula huésped procariota para la replicación de varios tipos de vectores. Las células bacterianas tales como, pero sin limitarse a, células competentes DH5 α , JM109 y KCB, SURE® y células Gold SOLOPACK pueden usarse como células huésped para la replicación y/o expresión del vector. Además,

20 las células bacterianas tales como E. coli LE392 podrían usarse como células huésped para virus de fagos. Las células eucarióticas que pueden usarse como células huésped incluyen, pero no se limitan a, levadura (p. ej., YPH499, YPH500 y YPH501), insectos y mamíferos. Los ejemplos de células huésped eucarióticas de

mamíferos para la replicación y/o expresión de un vector incluyen, pero no se limitan a, HeLa, NIH3T3, Jurkat, 293, COS, CHO, Saos, y PC12.

Las células huésped de la presente descripción incluyen células T y las células destructoras naturales que contienen secuencias de ADN o ARN que codifican el

5 CAR y que expresan el CAR en la superficie celular. Las células huésped pueden usarse para potenciar la actividad de células T, actividad de células destructoras naturales, el tratamiento del cáncer y el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

“Activación” o “estimulación” significa inducir un cambio en el estado biológico de las células por el cual las células (*p. ej.*, células T y células NK) expresan los

10 marcadores de activación, producen citocinas, se proliferan y/o se convierten en células citotóxicas a dianas. Todos estos cambios pueden producirse mediante señales estimuladoras primarias. Las señales coestimuladoras pueden amplificar la magnitud de las señales primarias y suprimir la muerte celular después de la estimulación inicial, lo que resulta en un estado de activación más durable y, por
15 lo tanto, una capacidad citotóxica mayor. Una “señal coestimuladora” se refiere a una señal, que en combinación con una señal primaria, tal como la ligación TCR/CD3, conduce a la proliferación de células T y/o células NK y/o la regulación en ascenso o regulación en descenso de moléculas clave.

El término “proliferación” se refiere a un incremento en la división celular, ya sea
20 una división de células simétrica o asimétrica. El término “expansión” se refiere al resultado de la división celular y la muerte celular.

El término “diferenciación” se refiere a un método para disminuir la potencia o proliferación de una célula o mover la célula a un estado más restringido de manera desarrollada.

Los términos “expresar” y “expresión” significan permitir o hacer que se
5 produzca la información en un gen o secuencia de ADN, por ejemplo, producir una proteína al activar las funciones celulares implicadas en la transcripción y traducción de un gen o secuencia de ADN correspondiente. Una secuencia de ADN se expresa en o por una célula para formar un “producto de expresión” tal como una proteína. También puede decirse que el producto en sí, p. ej., la
10 proteína resultante, es “expresado” por la célula. Un producto de expresión puede caracterizarse como intracelular, extracelular o transmembrana.

El término “transfección” significa la introducción de un ácido nucleico “extraño” (es decir, extrínseco o extracelular) en una célula usando ingeniería genética. El término “modificación genética” significa la introducción de un gen, una secuencia de ADN o
15 de ARN “extraños” (*es decir*, extrínsecos o extracelulares) en una célula huésped, de manera que la célula huésped expresará el gen o secuencia introducida para producir una sustancia deseada, típicamente una proteína o enzima codificada por el gen o secuencia introducida. El gen o secuencia introducida también puede denominarse un gen o secuencia “clonada” o “extraña”, puede incluir secuencias
20 reguladoras o de control unidas operativamente al polinucleótido que codifica el receptor de antígeno quimérico, tal como tales como las secuencias de inicio, detención, promotora, señal, secreción u otras secuencias usadas por la maquinaria genética de una célula. El gen o secuencia puede incluir secuencias no funcionales o

secuencias sin función conocida. Una célula huésped que recibe y expresa el ADN o ARN introducido se ha “modificado genéticamente”. El ADN o ARN introducido en una célula huésped puede provenir de cualquier fuente, incluidas las células del mismo género o especie que la célula huésped, o de un género o especie diferente.

- 5 El término “transducción” significa la introducción de un ácido nucleico extraño en una célula usando un vector viral.

El término “elemento regulador” se refiere a cualquier elemento genético que actúa en cis que controla algún aspecto de la expresión de las secuencias de ácido nucleico. En algunas modalidades, el término “promotor” comprende esencialmente
10 las secuencias mínimas requeridas para iniciar la transcripción. En algunas modalidades, el término “promotor” incluye las secuencias para iniciar la transcripción, y además, también incluye secuencias que pueden regular positivamente o negativamente la transcripción, comúnmente denominadas “elementos potenciadores” y “elementos represores”, respectivamente.

- 15 Como se usan en la presente descripción, el término “unido operativamente” y frases similares cuando se usan en referencia a ácidos nucleicos o aminoácidos, se refieren al enlace operativo de secuencias de ácido nucleico o secuencia de aminoácidos, respectivamente, colocadas en relaciones funcionales entre sí. Por ejemplo, un promotor, elementos potenciadores, marco de lectura abierto, UTR
20 5' y 3' y secuencias terminadoras operativamente enlazadas resultan en la producción precisa de una molécula de ácido nucleico (p. ej., ARN). En algunas modalidades, los elementos de ácido nucleico enlazados operativamente resultan en la transcripción de un marco de lectura abierto y, en última instancia,

en la producción de un polipéptido (es decir, la expresión del marco de lectura abierto). Como otro ejemplo, un péptido enlazado operativamente es aquel en el cual los dominios funcionales se colocan con una distancia adecuada entre sí para impartir la función prevista de cada dominio.

- 5 “Potenciar” o “promover”, o “aumentar” o expandir” o “mejorar” se refiere, generalmente, a la capacidad de una composición contemplada en la presente descripción para producir, provocar o causar una mayor respuesta fisiológica (es decir, efectos posteriores) en comparación con la respuesta causada por ya sea el vehículo o una molécula/composición de control. Una respuesta fisiológica
- 10 medible puede incluir un aumento en la expansión, activación, función efectora, persistencia de células T y/o un aumento en la capacidad de destrucción de células cancerosas, entre otros evidente a partir de la comprensión en la técnica y la descripción de la presente descripción. En ciertas modalidades, una cantidad “incrementada” o “potenciada” puede ser una cantidad “estadísticamente
- 15 significativa”, y puede incluir un incremento que es 1,1, 1,2, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30 o más veces (p. ej., 500, 1000 veces) (que incluyen todos los enteros y puntos decimales entre y por encima de 1, p. ej., 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, etc.) la respuesta producida por vehículo o una composición de control.

- “Disminuir” o “bajar” o “atenuar” o “reducir”, o “amainar” se refieren,
- 20 generalmente, a la capacidad de una composición contemplada en la presente descripción para producir, ocasionar o causar una menor respuesta fisiológica (es decir, efectos posteriores) en comparación con la respuesta causada por ya sea el vehículo o una molécula/composición de control. En ciertas modalidades, una

cantidad “disminuida” o “reducida” puede ser una cantidad “estadísticamente significativa”, y puede incluir una disminución que es 1,1, 1,2, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30 o más veces (p. ej., 500, 1000 veces) (que incluyen todos los enteros y puntos decimales entre y por encima de 1, p. ej., 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, etc.)

5 la respuesta (respuesta de referencia) producida por el vehículo, una composición de control, o la respuesta en un linaje celular particular.

El término “eficaz” aplicado a la dosis o cantidad se refiere a la cantidad de un compuesto o composición farmacéutica que es suficiente para resultar en una actividad deseada después de la administración a un sujeto que lo necesita. Nótese

10 que, cuando se administra una combinación de ingredientes activos, la cantidad eficaz de la combinación puede o no incluir cantidades de cada ingrediente que hubieran sido eficaces si se administraban individualmente. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, edad y estado general del sujeto, la gravedad de la afección que se está tratando, el fármaco o
15 fármacos particulares empleados, el modo de administración y lo similar.

La frase “farmacéuticamente aceptable”, como se usa en relación con composiciones descritas en la presente descripción, se refiere a entidades moleculares y otros ingredientes de tales composiciones que son fisiológicamente tolerables y que típicamente no producen reacciones

20 desfavorables cuando se administran a un mamífero (*p. ej.*, un humano).

Preferentemente, el término “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o enumerado en la

Farmacopea de los EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para usarse en mamíferos y, más particularmente, en seres humanos.

El término “proteína”, como se usa en la presente descripción, abarca todos los tipos de proteínas de origen natural y sintéticas, que incluyen fragmentos de

5 proteínas de todas las longitudes, proteínas de fusión y proteínas modificadas, que incluyen, sin limitarse a, glicoproteínas, así como todos los demás tipos de proteínas modificadas (p. ej., proteínas que resultan de la fosforilación, acetilación, miristoilación, palmitoilación, glicosilación, oxidación, formilación, amidación, poliglutamilación, ADP-ribosilación, pegilación, biotinilación, etc.)

10 Los términos “ácido nucleico”, “nucleótido” y “polinucleótido” abarcan tanto ADN como ARN a menos que se especifique de cualquier otra manera. Una “secuencia de ácido nucleico” o “secuencia de nucleótidos” se refiere a la secuencia de ácido nucleico que codifica un aminoácido; estos términos también pueden referirse a la secuencia de ácido nucleico que incluye la porción que

15 codifica cualquier aminoácido añadido como un artefacto de clonación, que incluye cualquier aminoácido codificado por enlazadores.

El término “portador” se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto. Tales portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, que incluyen los de origen

20 petrolífero, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de maní, aceite de frijol de soya, aceite mineral, aceite de sésamo y lo similar. Las soluciones salinas en agua o solución acuosa y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol se usan preferentemente como portadores, particularmente para soluciones inyectables.

Alternativamente, el portador puede ser un portador en forma de dosificación sólida, que incluye, pero no se limita a, uno o más de un aglutinante (para píldoras comprimidas), un agente de deslizamiento, un agente encapsulante, un saborizante y un colorante. Los portadores farmacéuticamente adecuados se describen en “Remington’s Pharmaceutical Sciences” de E.W. Martin.

El término “aproximadamente” incluye estar dentro de un rango estadísticamente significativo de un valor. Tal rango puede estar dentro de una orden de magnitud, preferentemente dentro de 50 %, con mayor preferencia dentro de 20 %, aún con mayor preferencia dentro de 10 % y aun con mayor preferencia dentro de 5 % de un valor o rango determinado. La variación aceptable que abarca el término “aproximadamente” depende del sistema particular en estudio, y puede ser apreciada fácilmente por un experto en la técnica.

“Peptidasa relacionada con calicreína 2” o “klk2” se refiere a una proteína conocida que también se llama calicreína 2, calicreína glandular 2, o HK2. La hK2 se produce como una preproteína y se surca durante la proteólisis para generar proteasa activa. Todas las isoformas y variantes de hK2 están comprendidas en “hK2”. Las secuencias de aminoácidos de las diversas isoformas son recuperables de números de acceso del GenBank NP_005542.1, NP_001002231.1 y NP_001243009. La secuencia de aminoácidos de una hK2 de longitud total se muestra en la sec. con núm. de ident.: 62. La secuencia incluye el péptido señal (residuos 1-18) y la región propeptídica (residuos 19-24).

La terminología usada en la presente descripción tiene el propósito de describir solo modalidades particulares y no se pretende que sea limitante. Como se usan

en la presente descripción, se entiende que los artículos indefinidos “un”, “uno/una” y “el /la” incluyen los referentes en plural a menos que el contexto indique claramente de cualquier otra manera.

5 **Receptores de antígenos quiméricos**

La presente invención se relaciona, generalmente, con el uso de células T modificadas genéticamente para expresar establemente un receptor de antígeno quimérico deseado. Un receptor de antígeno quimérico (CAR) es una proteína o polipéptido híbrido construido artificialmente que contiene los dominios de unión al antígeno de un anticuerpo (scFv) enlazado con dominios de señalización de células T. Las características de los CAR pueden incluir su capacidad para redirigir la especificidad y reactividad de las células T hacia un objetivo seleccionado de una manera no restringida por MHC, lo que explota las propiedades de unión al antígeno de anticuerpos monoclonales. El reconocimiento del antígeno no restringido por MHC da a las células T que expresan los CAR la capacidad de reconocer antígenos independientes del procesamiento del antígeno, por lo tanto, evitando un mecanismo principal de evasión tumoral. Además, cuando se expresan en células T, los CAR ventajosamente no se dimerizan con las cadenas alfa y beta del receptor de células T (TCR, por sus siglas en inglés) endógeno.

20 Los CAR descritos en la presente descripción proporcionan constructos de polipéptidos recombinantes que comprenden al menos un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización (también denominado en la presente descripción “dominio de

señalización citoplasmático”) que comprende un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora como se define más abajo. Las células T que expresan un CAR se denominan en la presente descripción como células T de CAR, células CAR-T o células T modificadas con CAR y estos

5 términos se usan indistintamente en la presente descripción. La célula puede modificarse genéticamente para expresar establemente un dominio de unión al anticuerpo en su superficie, lo que confiere una especificidad de antígeno novedosa que es independiente de MHC.

En algunos casos, la célula T se modifica genéticamente para expresar

10 establemente un CAR que combina un dominio de reconocimiento del antígeno de un anticuerpo específico con un dominio intracelular de la cadena CD3-zeta o proteína FcγRI en una sola proteína quimérica. En una modalidad, la molécula estimulante es la cadena zeta asociada con el complejo receptor de células T.

Un “dominio intracelular de señalización” o un “dominio de señalización

15 citoplasmático”, como se usa el término en la presente descripción, se refiere a una porción intracelular de una molécula. Es la porción funcional de la proteína que actúa al transmitir información dentro de la célula para regular la actividad celular a través de trayectorias de señalización definidas al generar segundos mensajeros o al funcionar como efectores al responder a tales mensajeros. El

20 dominio intracelular de señalización genera una señal que promueve una función efectora inmunitaria de la célula que contiene CAR, p. ej., una célula CAR-T. Los ejemplos de función efectora inmunitaria, p. ej., en una célula CAR-T, incluyen la actividad citolítica y la actividad auxiliar, que incluye la secreción de citocinas.

En una modalidad, el dominio intracelular de señalización puede comprender un dominio intracelular de señalización primario. Los dominios de señalización intracelulares primarios ilustrativos incluyen los derivados de las moléculas responsables de la estimulación primaria, o simulación dependiente del antígeno. En

5 una modalidad, el dominio intracelular de señalización puede comprender un dominio intracelular coestimulador. Los dominios de señalización intracelulares coestimuladores ilustrativos incluyen los derivados de las moléculas responsables de las señales coestimuladoras, o la estimulación independiente del antígeno. Por ejemplo, en el caso de una CAR-T, un dominio intracelular de señalización primario

10 puede comprender una secuencia citoplasmática de un receptor de células T, y un dominio intracelular de señalización coestimulador puede comprender la secuencia citoplasmática de la molécula correceptora o coestimuladora.

Un dominio intracelular de señalización primario puede comprender un motivo de señalización que se conoce como un motivo de activación del inmunorreceptor

15 basado en tirosina o ITAM. Los ejemplos de ITAM que contienen secuencias de señalización citoplasmática primarias incluyen, pero no se limitan a, aquellas derivadas de CD3-zeta, FcR gamma, FcR beta, CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b y CD66d DAP10 y DAP12.

El término “zeta” o alternativamente “cadena zeta”, “CD3-zeta” o “TCR-zeta” se

20 define como la proteína proporcionada como número de acceso de GenBank BAG36664.1, o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., murino, conejo, primate, ratón, roedor, mono, simio y lo similar, y un “dominio estimulador de zeta” o alternativamente un “dominio estimulador de CD3-zeta” o

un “dominio estimulador de TCR-zeta” se define como los residuos de aminoácidos del dominio citoplasmático de la cadena zeta que son suficientes para transmitir funcionalmente una señal inicial necesaria para la activación de células T. A veces, p. ej., en o los aspectos y/o modalidades de la descripción, el “dominio estimulador zeta” o un “dominio estimulador de CD3-zeta” también se denomina “dominio de señalización primaria”. En un aspecto, el dominio citoplasmático de dominio estimulador de CD3-zeta comprende los residuos 52 a 164 del número de acceso de GenBank BAG36664.1 o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y lo similar, que son ortólogos funcionales de estos. En una modalidad preferida, el dominio intracelular de señalización comprende un dominio estimulador de CD3-zeta. En un aspecto, el “dominio estimulador zeta” o un “dominio estimulador de CD3-zeta” es la secuencia proporcionada como la sec. con núm. de ident.: 28, o una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 28.

El término “molécula coestimuladora” se refiere al ligando cognado en una célula T que se une específicamente a un ligando coestimulador, mediando de ese modo una respuesta coestimuladora por la célula T, tal como, pero sin limitarse a, proliferación. Las moléculas coestimuladoras son moléculas de la superficie de células distintas de los receptores de antígenos o sus ligandos que son necesarias para una respuesta inmunitaria eficaz. Las moléculas coestimuladoras incluyen, pero no se limitan a, una

molécula MHC clase 1, BTLA y un receptor Toll del ligando, así como OX40, CD2, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18) y 4-1BB (CD137).

Un dominio intracelular de señalización coestimuladora puede ser la porción intracelular de una molécula coestimuladora. Una molécula coestimuladora

5 puede estar representada en las siguientes familias de proteínas: Proteínas receptoras de TNF, proteínas similares a la inmunoglobulina, receptores de citocinas, integrinas, moléculas de señalización de activación linfocítica (proteínas de SLAM) y receptores de activación de células NK. Los ejemplos de tales moléculas incluyen CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, 10 MyD88, CD40, ICOS, BAFFR, HVEM, antígeno asociado a la función linfocitaria-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3, y un ligando que se une específicamente con CD83, y lo similar.

El dominio intracelular de señalización puede comprender toda la porción intracelular, o todo el dominio de señalización intracelular nativo, de la molécula 15 de la cual se deriva, o un fragmento funcional de esta.

El término “4-1BB” o alternativamente “CD137” se refiere a un miembro de la superfamilia de TNFR con una secuencia de aminoácidos proporcionada como número de acceso al GenBank núm. AAA62478.2, o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y lo similar; y un 20 “dominio coestimulador de 4-1BB” se define como los residuos de aminoácidos 214-255 de acceso al GenBank núm. AAA62478.2, o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y lo similar. A

veces, p. ej. en aspectos y/o modalidades de la descripción, el “dominio coestimulador de 4-1BB” también se denomina “dominio coestimulador”.

En una modalidad preferida, el dominio intracelular de señalización comprende un dominio intracelular de señalización coestimulador, en donde el dominio

5 intracelular de señalización coestimulador es un dominio coestimulador de 4-1BB o “dominio coestimulador de CD137”. En un aspecto, el “dominio coestimulador de 4-1BB” o “dominio coestimulador de CD137” es la secuencia proporcionada como la sec. con núm. de ident.: 27 o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y lo similar, o una

10 secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 27. En una modalidad preferida, el dominio coestimulador de 4-1BB es la

15 secuencia proporcionada como la sec. con núm. de ident.:27

En una modalidad, se usa un dominio transmembrana que se asocia naturalmente con uno de los dominios en el CAR. En otra modalidad, el dominio transmembrana puede seleccionarse o modificarse por sustitución de aminoácidos para evitar la

20 unión de tales dominios a los dominios transmembrana de las mismas o diferentes proteínas de la membrana de superficie para minimizar las interacciones con otros miembros del complejo receptor. En una modalidad ilustrativa, el dominio

transmembrana comprende el dominio de bisagra CD8 α . En una modalidad, el CAR comprende un dominio bisagra CD8 α y un dominio transmembrana CD8 α . En algunas modalidades, el dominio citoplasmático de señalización comprende además uno o más dominios funcionales de señalización derivados de al menos

5 una molécula coestimuladora como se define en la presente descripción. En una modalidad, la molécula coestimuladora se selecciona de 4-1BB (es decir, CD137), CD27, CD3-zeta y/o CD28. El CD28 es un marcador de células T importante en la coestimulación de las células T. El CD27 es un miembro de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral y actúa como una

10 molécula de control inmunitario coestimuladora. El 4-1BB transmite una señal coestimuladora potente a las células T, lo que promueve la diferenciación y potencia la supervivencia a largo plazo de linfocitos T. El CD3-zeta se asocia con los TCR para producir una señal y contiene motivos de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM, por sus siglas en inglés). En otra

15 modalidad, la molécula coestimuladora es MyD88 o CD40.

En una modalidad, el CAR comprende un dominio bisagra intracelular que comprende CD8 y un dominio intracelular de señalización del receptor de células T que comprende CD28, 4-1BB y CD3-zeta. En otra modalidad, el CAR comprende un dominio bisagra intracelular y un dominio intracelular de señalización del receptor de

20 células T que comprende CD28, 4-1BB y CD3-zeta, en donde el dominio bisagra comprende toda o parte de la región extracelular de CD8, CD4 o CD28; toda o parte de una región constante de anticuerpos; todo o parte del receptor de Fc γ RIIIa, una bisagra de IgG, una bisagra de IgM, una bisagra de IgA, una bisagra de IgD, una

bisagra de IgE o una bisagra de Ig. La bisagra de IgG puede ser de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM1, IgM2, IgA1, IgA2, IgD, IgE o una quimera de estas.

Los CAR descritos en la presente descripción proporcionan constructos de polipéptidos recombinantes que comprenden al menos un dominio extracelular de

5 unión al antígeno, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización (también denominado en la presente descripción “dominio de señalización citoplasmático”) que comprende, p. ej., un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora como se define más abajo

En una modalidad, el CAR comprende una proteína quimérica de fusión que

10 comprende un dominio de reconocimiento del antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización que comprende un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora. En una modalidad, el CAR comprende una proteína quimérica de fusión que comprende un dominio de reconocimiento del antígeno extracelular, un dominio transmembrana y

15 un dominio intracelular de señalización que comprende un dominio de señalización funcional derivado de una molécula coestimuladora y un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora. En una modalidad, el CAR comprende una proteína quimérica de fusión que comprende un dominio de reconocimiento del antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio

20 intracelular de señalización que comprende al menos dos dominios de señalización funcional derivado de una o más molécula(s) coestimuladora y un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora.

Los CAR de la invención pueden diseñarse para comprender el dominio de señalización de CD28 y/o 4-1BB por sí mismo o combinarse con cualquier otro dominio citoplasmático deseado útil en el contexto de los CAR de la invención.

En una modalidad, el dominio citoplasmático del CAR puede comprender

5 además el dominio de señalización de CD3-zeta. Por ejemplo, el dominio citoplasmático del CAR puede incluir, pero no se limita a, módulos de señalización de CD3-zeta, 4-1BB y CD28 y combinaciones de estos.

En una modalidad, el CAR comprende un dominio bisagra que comprende un dominio bisagra CD8 α y un dominio transmembrana CD8 α y un dominio

10 intracelular de señalización que comprende 4-1BB y CD3-zeta. En una modalidad, el CAR comprende un dominio bisagra que comprende un dominio bisagra Cd8 α , un dominio transmembrana CD8 α , y un dominio intracelular de señalización que comprende CD28, 4-1BB y CD3-zeta.

En otra modalidad, el CAR comprende un dominio bisagra CD8 α , un dominio

15 transmembrana CD8 α y un dominio intracelular de señalización que comprende el dominio de señalización de CD3-zeta y un dominio coestimulador de 4-1BB.

En otra modalidad, el CAR comprende una región bisagra CD8 α que comprende

la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25; un dominio transmembrana que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con

20 núm. de ident.: 26; y un dominio intracelular de señalización que comprende un dominio coestimulador que comprende un dominio coestimulador que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27, y

un dominio de señalización primaria que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28.

En consecuencia, la invención proporciona células T de CAR y métodos para su
5 uso en la terapia adoptiva.

La descripción proporciona además variantes, p. ej., variantes funcionales de los CAR, ácidos nucleicos, polipéptidos y proteínas descritos en la presente descripción. “Variante” se refiere a un polipéptido o un polinucleótido que difiere de un polipéptido de referencia o un polinucleótido de referencia en una o más modificaciones, por
10 ejemplo, sustituciones, inserciones o deleciones. El término “variante funcional”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un CAR, polipéptido o proteína que tiene una identidad o similitud de secuencia sustancial o significativa con un CAR, polipéptido o proteína original, cuya variante funcional retiene la actividad biológica del CAR, polipéptido o proteína para la cual es una variante. Las variantes
15 funcionales abarcan, p. ej., aquellas variantes del CAR, polipéptido o proteína descritos en la presente descripción (el CAR, polipéptido o proteína original) que retienen la capacidad de reconocer las células diana a una extensión similar, la misma extensión, o a una extensión mayor, como el CAR, polipéptido o proteína original. En referencia al CAR, polipéptido o proteína original, la variante funcional
20 puede ser, por ejemplo, al menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %,

aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 % o más idéntica en secuencia de aminoácidos al CAR, polipéptido o proteína original.

En la presente descripción, la estructura de polipéptidos se encuentra en lugares
5 definidos en la base del % de identidad de secuencias con una secuencia de referencia mencionada (con una sec. con núm. de ident. determinada). En este contexto, el % de identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos puede determinarse al comparar estas dos secuencias alineadas de una manera óptima, y en el cual la secuencia de aminoácidos a compararse puede
10 comprender adiciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia para un alineamiento óptimo entre estas dos secuencias. El porcentaje de identidad se calcula al determinar el número de posiciones idénticas para las cuales el residuo de aminoácidos es idéntico entre las dos secuencias, al dividir este número de posiciones idénticas por el número total de posiciones en la
15 ventana de comparación y al multiplicar el resultado obtenido por 100 para obtener el porcentaje de identidad entre estas dos secuencias. Típicamente, la ventana de comparación corresponde a la longitud total de la secuencia que se compara. Por ejemplo, es posible usar el programa BLAST, “secuencias BLAST 2” (Tatusova et al, “Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and
20 nucleotide sequences”, FEMS Microbiol Lett. 174:247-250) disponible en el sitio <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>, los parámetros usados son aquellos determinados por defecto (en particular para los parámetros “penalización por huecos abiertos”: 5 y “penalización por huecos de extensión”: 2; la matriz

escogida que es, por ejemplo, la matriz “BLOSUM 62” propuesta por el programa), el porcentaje de identidad entre las dos secuencias a comparar se calcula directamente mediante el programa. Determinar la identidad de secuencia de una secuencia de consulta con una secuencia de referencia está
5 dentro de la capacidad del experto y puede realizarse usando un software de análisis disponible comercialmente tal como BLAST™.

Una variante funcional puede comprender, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos del CAR, polipéptido o proteína original con al menos una sustitución de aminoácidos conservadora. En otra modalidad, las variantes funcionales
10 pueden comprender la secuencia de aminoácidos del CAR, polipéptido o proteína original con al menos una sustitución de aminoácidos conservadora. En este caso, la sustitución de aminoácidos no conservadora puede no interferir con o inhibir la actividad biológica de la variante funcional. La sustitución de aminoácidos no conservadora puede mejorar la actividad biológica de la variante
15 funcional de tal manera que la actividad biológica de la variante funcional se aumente en comparación con el CAR, polipéptido o proteína original.

Las sustituciones de aminoácidos de los CAR de la invención pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras se conocen en la técnica e incluyen sustituciones de aminoácidos en
20 las cuales un aminoácido que tiene ciertas propiedades físicas y/o químicas se intercambia por otro aminoácido que tiene las mismas propiedades químicas o físicas similares. Por ejemplo, la sustitución de aminoácidos conservadora puede ser un aminoácido ácido sustituido por otro aminoácido ácido (p. ej., Asp o Glu), un

aminoácido con una cadena lateral no polar sustituido por otro aminoácido con una cadena lateral no polar (p. ej., Ala, Gly, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val, etc.), un aminoácido básico sustituido por otro aminoácido básico (Lys, Arg, etc.), un aminoácido con una cadena lateral polar sustituida por otro aminoácido con una

5 cadena lateral polar (Asn, Cys, Gln, Ser, Thr, Tyr, etc.), etc.

El CAR, polipéptido o proteína puede consistir esencialmente en la secuencia o secuencias de aminoácidos especificadas descritas en la presente descripción, de tal manera que otros componentes p. ej, otros aminoácidos, no cambien materialmente la actividad biológica de la variante funcional.

10 Los CAR, polipéptidos y proteínas de las modalidades de la descripción (que incluyen las porciones funcionales y variantes funcionales) pueden ser de cualquier longitud, es decir, pueden comprender cualquier número de aminoácidos, siempre que los CAR, polipéptidos, o proteínas (o porciones funcionales o variantes funcionales de estas) retienen su actividad biológica, p. ej., la capacidad de unirse

15 específicamente a un antígeno, detectar células enfermas (p. ej., células cancerosas) en un huésped, o tratar o prevenir una enfermedad en un huésped, etc. Por ejemplo, el polipéptido puede tener aproximadamente 50 a aproximadamente 5000 aminoácidos de largo, tal como aproximadamente 50, aproximadamente 70, aproximadamente 75, aproximadamente 100, aproximadamente 125,

20 aproximadamente 150, aproximadamente 175, aproximadamente 200, aproximadamente 225, aproximadamente 250, aproximadamente 275, aproximadamente 300, aproximadamente 325, aproximadamente 350, aproximadamente 375, aproximadamente 400, aproximadamente 425,

- aproximadamente 450, aproximadamente 475, aproximadamente 500, aproximadamente 525, aproximadamente 550, aproximadamente 575, aproximadamente 600, aproximadamente 625, aproximadamente 650, aproximadamente 675, aproximadamente 700, aproximadamente 725,
- 5 aproximadamente 750, aproximadamente 775, aproximadamente 800, aproximadamente 825, aproximadamente 850, aproximadamente 875, aproximadamente 900, aproximadamente 925, aproximadamente 950, aproximadamente 975, aproximadamente 1000 o más aminoácidos de longitud. Los polipéptidos de la invención también incluyen oligopéptidos.
- 10 Los CAR, polipéptidos y proteínas de las modalidades de la invención (que incluyen porciones funcionales y variantes funcionales de la invención) pueden comprender aminoácidos sintéticos en lugar de uno o más aminoácidos de origen natural. Tales aminoácidos sintéticos se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, ácido
- 15 carboxílico aminociclohexano, norleucina, ácido α -amino n-decanoico, homoserina, S-acetilaminometil-cisteína, trans-3- y trans-4-hidroxiprolina, 4-aminofenilalanina, 4-nitrofenilalanina, α -(2-amino-2-norbornano)-ácido carboxílico, α,γ -ácido
- diaminobutírico, α,β -ácido diaminopropiónico, homofenilalanina, 4-clorofenilalanina, 4-carboxifenilalanina, β -fenilserina β -hidroxifenilalanina, fenilglicina, α -naftilalanina, ciclohexilalanina, ciclohexilglicina, N'-bencil-N'-metil-lisina, N',N'-dibencil-lisina, 6-
- 20 hidroxilisina, ornitina, ácido α -aminociclopentano carboxílico, ácido α -aminociclohexano carboxílico, ácido α -aminocicloheptano carboxílico, ácido indolina-2-carboxílico, ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-3-carboxílico, ácido aminomalónico, monoamida de ácido aminomalónico y α -terc-butilglicina.

Los CAR, polipéptidos y proteínas de las modalidades de la invención (que incluyen porciones funcionales y variantes funcionales) pueden estar sujetos a modificaciones postraslación. Estos pueden ser glicosilados, esterificados, N-acilados, amidados, carboxilados, fosforilados, esterificados, ciclizados a través de, p. ej., un puente de disulfuro, o convertidos en una sal de adición ácida. En algunas modalidades, estos se dimerizan o polimerizan, o conjugan.

Los CAR, polipéptidos y/o proteínas de modalidades de la invención (que incluyen porciones funcionales y variantes funcionales de estos) pueden obtenerse mediante métodos conocidos en la técnica. Los métodos adecuados para sintetizar *de novo* polipéptidos y proteínas se describen en referencias, tales como Chan et al., *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis*, Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 2000; *Peptide and Protein Drug Analysis*, ed. Reid, R., Marcel Dekker, Inc., 2000; y *Epitope Mapping*, ed. Westwood et al., Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 2001. También, los polipéptidos y proteínas pueden producirse de manera recombinante usando los ácidos nucleicos descritos en la presente descripción usando los métodos recombinantes estándar. Ver, por ejemplo, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 2001; y Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, NY, 1994. Además, algunos de los CAR, polipéptidos y proteínas de la invención (que incluyen porciones funcionales y variantes funcionales de estos) pueden aislarse y/o purificarse desde una fuente, tal como una planta, una bacteria, un insecto, un mamífero, etc. Los métodos de aislamiento y purificación se conocen en la técnica.

Alternativamente, los CAR, polipéptidos y/o proteínas descritos en la presente descripción (que incluyen porciones funcionales y variantes funcionales de estos) pueden sintetizarse comercialmente. En este sentido, los CAR, polipéptidos y proteínas pueden ser sintéticos, recombinantes, aislados y/o purificados.

- 5 Los ejemplos de nucleótidos modificados que pueden usarse para generar los ácidos nucleicos recombinantes usados para producir los polipéptidos descritos en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-clorouracilo, 5-yodouracilo, hipoxantina, xantina, 4-acetilcitosina, 5-(carboxihidroximetil) uracilo, carboximetilaminometil-2-tiouridina, 5-
10 carboximetilaminometiluracilo, dihidrouracilo, adenina sustituida N⁶, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, beta-D-manosilqueosina, 5''-metoxicarboximetiluracilo, 5-metoxiuracilo, 2-metiltio-N⁶-isopenteniladenina, ácido uracil-5-oxiacético (v), wibutoxiosina, pseudouracilo, queosina, beta-D-galactosilqueosina, inosina, N⁶-isopenteniladenina, 1-
15 metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, 2-tiocitosina, 5-metil-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, 3-(3-amino-3-N-2-carboxipropil) uracilo y 2,6-diaminopurina.

- El ácido nucleico puede comprender cualquier secuencia de nucleótidos aislada o
20 purificada que codifica cualquiera de los CAR, polipéptidos o proteínas, o porciones funcionales o variantes funcionales de estos. Alternativamente, la secuencia de nucleótidos puede comprender una secuencia de nucleótidos que es redundante en cualquiera de las secuencias o una combinación de secuencias degeneradas.

Algunas modalidades de la invención también proporcionan un ácido nucleico aislado o purificado que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en la presente descripción o una secuencia de nucleótidos que se hibrida bajo condiciones rigurosas a la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en la presente descripción.

La secuencia de nucleótidos que se hibrida bajo condiciones rigurosas puede hibridarse bajo condiciones de rigurosidad alta. Por “condiciones de rigurosidad alta” se refiere a que la secuencia de nucleótidos se hibrida específicamente a una secuencia diana (la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en la presente descripción) en una cantidad que es detectablemente más fuerte que la hibridación no específica. Las condiciones de rigurosidad alta incluyen condiciones que distinguirían un polinucleótido con una secuencia complementaria exacta, o uno que contiene solo unas pocas incompatibilidades dispersas desde una secuencia aleatoria que sucedía que tiene unas pocas regiones pequeñas (p. ej., 3-12 bases) que coincidieron con la secuencia de nucleótidos. Tales regiones pequeñas de complementariedad se funden con mayor facilidad que un complemento de longitud total de 14-17 o más bases, y la hibridación de rigurosidad alta las hace fácilmente distinguibles. Las condiciones de rigurosidad relativamente alta incluirían, por ejemplo, condiciones de temperatura de baja sal y/o alta temperatura, tales como las proporcionadas por aproximadamente 0,02-0,1 M de NaCl o el equivalente, a temperaturas de aproximadamente 50-70 °C. Tales condiciones de rigurosidad alta toleran poca, si existe alguna, incompatibilidad entre

la secuencia de nucleótidos y la plantilla o cadena diana, y son particularmente adecuadas para detectar la expresión de cualquiera de los CAR descritos en la presente descripción. Se aprecia, generalmente, que las condiciones pueden hacerse más rigurosas mediante la adición de cantidades crecientes de formamida.

- 5 En una modalidad, los ácidos nucleicos de la invención pueden incorporarse en un vector de expresión recombinante. La presente descripción proporciona vectores de expresión recombinantes que comprenden cualquiera de los ácidos nucleicos de la invención. Como se usa en la presente descripción, el término “vector de expresión recombinante” significa un constructo de oligonucleótidos o
- 10 polinucleótidos modificado genéticamente que permite la expresión de un ARNm, proteína, polipéptido o péptido mediante una célula huésped, cuando el constructo comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el ARNm, proteína, polipéptido o péptido, y el vector entra en contacto con la célula bajo condiciones suficientes para que el ARNm, proteína, polipéptido o péptido se exprese dentro
- 15 de la célula. Los vectores descritos en la presente descripción no son de origen natural como un todo; sin embargo, partes de los vectores pueden ser de origen natural. Los vectores de expresión recombinantes descritos pueden comprender cualquier tipo de nucleótidos, que incluyen, pero no se limitan a, ADN y ARN, que pueden ser monocatenarios o bicatenarios, sintetizados u obtenidos en parte de
- 20 fuentes naturales, y que pueden contener nucleótidos naturales, no naturales o alterados. Los vectores de expresión recombinantes pueden comprender enlaces internucleótidos de origen natural o de origen artificial, o ambos tipos de enlaces.

Los enlaces de nucleótidos o internucleótidos de origen artificial o alterados no impiden la transcripción o replicación del vector.

En una modalidad, el vector de expresión recombinante de la invención puede ser cualquier vector de expresión recombinante adecuado, y puede usarse para

5 transformar o transfectar cualquier huésped adecuado. Los vectores adecuados incluyen los diseñados para propagación y expansión o para expresión o ambos, tales como plásmidos y virus. El vector puede seleccionarse del grupo que consiste en la serie pUC (Fermentas Life Sciences, Glen Burnie, Md.), la serie pBluescript (Stratagene, LaJolla, Calif.), la serie pET (Novagen, Madison, Wis.),

10 la serie pGEX (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) y la serie pEX (Clontech, Palo Alto, Calif.). Pueden usarse vectores bacteriófagos, tales como λ GT10, λ GT11, λ EMBL4, y λ NM1149, λ ZapII (Stratagene). Los ejemplos de vectores de expresión vegetal incluyen pBI01, pBI01.2, pBI121, pBI101.3 y pBIN19 (Clontech). Los ejemplos de vectores de expresión animal incluyen pEUK-CI,

15 pMAM y pMAMneo (Clontech). El vector de expresión recombinante puede ser un vector viral, p. ej., un vector retroviral, p. ej., un vector retroviral gamma.

En una modalidad, los vectores de expresión recombinantes de la invención se preparan usando las técnicas de ADN recombinante estándar descritas en, por ejemplo, Sambrook et al., supra, and Ausubel et al., supra. Los constructos de

20 vectores de expresión, que son circulares o lineales, pueden prepararse para contener un sistema de replicación funcional en una célula huésped procariota o eucariótica. Los sistemas de replicación pueden derivarse, p. ej., de ColE1, SV40, plásmido de 2 μ , λ , virus del papiloma bovino, y lo similar.

El vector de expresión recombinante puede comprender secuencias reguladoras, tales como codones de iniciación y terminación de transcripción y traslación, que son específicas para el tipo de huésped (p. ej., bacteria, planta, hongo o animal) en el cual se va a introducir el vector, según corresponda, y
5 tomando y teniendo en cuenta si el vector se basa en ADN o ARN.

El vector de expresión recombinante puede incluir uno o más genes marcadores, que permiten la selección de huéspedes transformados o transfectados. Los genes marcadores incluyen resistencia biocida, p. ej., resistencia a antibióticos, metales pesados, etc., complementación en un huésped auxotrófico para proporcionar
10 prototrofia, y lo similar. Los genes marcadores adecuados para los vectores de expresión descritos incluyen, por ejemplo, genes de resistencia a la neomicina/G418, genes de resistencia al histidinol X, genes de resistencia al histidinol, genes de resistencia a la tetraciclina y genes de resistencia a la ampicilina.

El vector de expresión recombinante puede comprender un promotor nativo o
15 normativo enlazado operativamente a la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR, polipéptido o proteína (que incluye porciones funcionales y variantes funcionales de estos) o a la secuencia de nucleótidos es complementaria a o que se hibrida a la secuencia de nucleótidos que codifica el CAR, polipéptido o proteína. La selección de promotores, p. ej., fuertes, débiles, específicos del
20 tejido, inducibles y específicos del desarrollo, está dentro de la experiencia del experto. Similarmente, la combinación de una secuencia de nucleótidos con un promotor también está dentro de la experiencia del experto. El promotor puede ser un promotor no viral o un promotor viral, p. ej., un promotor de citomegalovirus

(CMV), un promotor de RSV, un promotor de SV40, o un promotor descubierto en la repetición del terminal largo del virus de células madre de murinos.

Los vectores de expresión recombinantes pueden diseñarse ya sea para expresión transitoria, para expresión estable o para ambas. Además, los

5 vectores de expresión recombinantes pueden crearse para expresión constitutiva o para expresión inducible.

Además, los vectores de expresión recombinantes pueden crearse para incluir un gen suicida. Como se usa en la presente descripción, “gen suicida” se refiere a un gen que hace que la célula que expresa el gen suicida muera. El gen suicida

10 puede ser un gen que confiere sensibilidad a un agente, p. ej., un fármaco, tras la célula en la que se expresa el gen, y hace que la célula muera cuando la célula entra en contacto con o se expone al agente. Los genes suicidas se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, el gen timidina quinasa (TK, por sus siglas en inglés) del Virus del Herpes simple (HSV, por sus siglas en inglés), citosina
15 desaminasa, purina-nucleósido fosforilasa y nitroreductasa.

Se incluyen en el alcance de la invención los conjugados, p. ej., los bioconjugados, que comprenden cualquiera de los CAR, polipéptidos o proteínas (que incluyen cualquiera de las porciones funcionales o variantes de estas), células huésped, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes,

20 poblaciones de células huésped, o anticuerpos, o porciones de unión al antígeno de estos. Los conjugados, así como los métodos para sintetizar conjugados en general, se conocen en la técnica (ver, por ejemplo, Hudecz, F., *Methods Mol. Biol.* 298: 209-223 (2005) y Kirin y col., *Inorg Chem.* 44(15): 5405-5415 (2005)):

Una modalidad de la invención proporciona además un anticuerpo, o porción de unión al antígeno de este, que se une, p. ej., se une específicamente, a un epítipo de los CAR de la invención.

El anticuerpo puede ser cualquier tipo de inmunoglobulina que se conocen en la técnica. Las inmunoglobulinas pueden asignarse a cinco clases principales: IgA, 5 IgD, IgE, IgG e IgM. La IgA y la IgG se subclasifican además como los isotipos IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Las cadenas ligeras del anticuerpo de especies de vertebrado pueden asignarse a uno de dos tipos, kappa (κ) y lambda (λ), basados en las secuencias de aminoácidos de sus dominios 10 constantes. El anticuerpo puede ser de cualquier clase o isotipo.

Los anticuerpos incluyen moléculas de inmunoglobulina que incluye anticuerpos monoclonales que incluyen anticuerpos monoclonales murinos, humanos, humanizados y quiméricos, fragmentos de unión al antígeno, policlonales, anticuerpos biespecíficos o multiespecíficos, anticuerpos monoméricos, diméricos, 15 tetraméricos o multiméricos, anticuerpos de cadena única, anticuerpos de dominio y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de unión al antígeno de la especificidad requerida. El anticuerpo puede ser un anticuerpo de origen natural, p. ej., un anticuerpo aislado y/o purificado de un mamífero, p. ej., murino, primate, ratón, conejo, cabra, 20 caballo, pollo, hámster, humano, etc. Alternativamente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo diseñado (p. ej., diseñado genéticamente).

Los anticuerpos humanizados tienen sitios de unión al antígeno que se derivan de especies no humanas y los marcos de la región variable se derivan de

secuencias de inmunoglobulinas humanas. Los anticuerpos humanos tienen regiones variables de cadena pesada y ligera en las que tanto el marco como el sitio de unión al antígeno se derivan de secuencias de origen humano.

También, el anticuerpo puede tener cualquier nivel de afinidad o avidez para la porción funcional del CAR. En algunas modalidades, el anticuerpo puede unirse al antígeno de hK2 con un rango de afinidades (K_D). En una modalidad de acuerdo con la invención, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades numeradas enumeradas más abajo, el anticuerpo se une al antígeno de hK2 con afinidad alta, por ejemplo, con una K_D igual a o menor que aproximadamente 10^{-7} M, tal como, pero no se limita a, $1-9,9$ (o cualquier rango o valor en este, tal como $1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, \text{ o } 9$) $\times 10^{-8}$ M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M, 10^{-14} M, 10^{-15} M o cualquier rango o valor en este, como se determina mediante la resonancia de plasmones de superficie o el método Kinexa, como lo practican los expertos en la técnica. Una afinidad ilustrativa es igual a o menor que 1×10^{-8} M. Otra afinidad ilustrativa es igual a o menor que 1×10^{-9} M.

Los métodos para evaluar los anticuerpos para la capacidad de unirse a cualquier porción funcional de los CAR se conocen en la técnica e incluyen cualquier ensayo de unión al anticuerpo-antígeno, tal como, por ejemplo, radioinmunoensayo (RIA, por sus siglas en inglés), Western blot, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés), inmunoprecipitación y ensayos de inhibición competitiva.

Los métodos adecuados para elaborar anticuerpos se conocen en la técnica. Por ejemplo, los métodos de hibridoma estándar se describen en, p. ej., Köhler y Milstein,

Eur. J. Immunol., 5, 511-519 (1976), Harlow and Lane (eds.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, CSH Press (1988), y C. A. Janeway et al. (eds.), *Immunobiology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York, N.Y. (2001)). Alternativamente, otros métodos, tales como los métodos de hibridoma de EBV (Haskard y Archer, J. *Immunol. Methods*, 74(2), 361-67 (1984), y Roder et al., *Methods Enzymol.*, 121, 140-67 (1986)), y sistemas de expresión de vectores bacteriófagos (ver, p. ej., Huse et al., *Science*, 246, 1275-81 (1989)) se conocen en la técnica. Además, los métodos para producir anticuerpos en animales no humanos se describen en, p. ej., las patentes de los EE. UU. núms. 5.545.806, 5.569.825 y 5.714.352, y en la publicación de la solicitud de patente de los EE. UU. núm. 2002/0197266 A1).

La visualización de fagos también puede usarse para generar un anticuerpo. En este sentido, las bibliotecas en fagos que codifican dominios variables (V) de unión al antígeno de anticuerpos pueden generarse usando biología molecular estándar y técnicas de ADN recombinantes (ver, p. ej., Sambrook et al., *supra*, y Ausubel et al., *supra*). Los fagos que codifican una región variable con la especificidad deseada se seleccionan para la unión específica al antígeno deseado (es decir, hK2), y se reconstituye un anticuerpo completo o parcial que comprende el dominio variable seleccionado. Las secuencias de ácido nucleico que codifican el anticuerpo reconstituido se introducen en una línea celular adecuada, tal como una célula de mieloma usada para la producción de hibridomas, de tal manera que los anticuerpos que tienen las características de los anticuerpos monoclonales se secretan mediante la célula (ver, p. ej., Janeway et al., *supra*, Huse et al., *supra*, y la patente de los EE. UU. núm. 6.265.150).

Los anticuerpos pueden producirse mediante ratones transgénicos que son transgénicos para genes de inmunoglobulinas de cadena pesada y ligera específicos. Tales métodos se conocen en la técnica y se describen en, por ejemplo, las patentes de los EE. UU. núms. 5.545.806 y 5.569.825, y Janeway et al., supra.

- 5 Los métodos para generar anticuerpos humanizados se conocen en la técnica y se describen en, por ejemplo, Janeway et al., supra, las patentes de los EE. UU. núms. 5.225.539, 5.585.089 y 5.693.761, la patente europea núm. 0239400 B1, y la patente del Reino Unido núm. 2188638. Los anticuerpos humanizados también pueden generarse usando la tecnología de recubrimiento de
- 10 anticuerpos descrita en la patente de los EE. UU. núm. 5.639.641 y Pedersen et al., J. Mol. Biol., 235, 959-973 (1994);

- Los anticuerpos, como se usan en la presente descripción, pueden ser inmunoglobulinas intactas o de cadena múltiple o de cadena única, y pueden derivarse de fuentes naturales o de fuentes recombinantes. Los anticuerpos
- 15 pueden ser tetrámeros de moléculas de inmunoglobulina.

- El término “fragmento de anticuerpo” se refiere a al menos una porción de un anticuerpo intacto, o variantes recombinantes de este, que retiene las propiedades de unión al antígeno del anticuerpo de longitud total parental. Se refiere a, por ejemplo, el dominio de unión al antígeno, p. ej., una región variable
- 20 determinante antigénica de un anticuerpo intacto, que es suficiente para conferir reconocimiento y unión, p. ej., unión específica del fragmento de anticuerpo a un objetivo, tal como un antígeno. “Fragmento de unión al antígeno” se refiere a una porción de una molécula de inmunoglobulina. Los ejemplos de fragmentos

de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, Fab, Fab', F(ab')₂, y fragmentos Fv, anticuerpos de cadena única (scFv), anticuerpos lineales, anticuerpos de dominio único tales como sdAb (ya sea VL o VH), dominios VHH camélidos, y anticuerpos multiespecíficos formados de fragmentos de anticuerpos.

- 5 El término “scFv” se refiere a una proteína que comprende al menos un fragmento de anticuerpo que comprende una región variable de una cadena ligera y al menos un fragmento de anticuerpo que comprende una región variable de una cadena pesada. En algunas modalidades, las regiones variables de cadena ligera y pesada se enlazan contiguamente a través de un enlazador polipeptídico
- 10 flexible corto, y son capaces de expresarse como un polipéptido de cadena única, y en donde la scFv retiene la especificidad del anticuerpo intacto del cual se deriva. A menos que se especifique, como se usa en la presente descripción, un scFv puede tener las regiones variables VL y VH en cualquier orden, p. ej., con respecto a los extremos N-terminal y C-terminal del polipéptido, la scFv puede
- 15 comprender el VL-enlazador-VH o puede comprender el VH-enlazador-VL.

Una modalidad de la invención también proporciona porciones de unión al antígeno de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente descripción.

La porción de unión al antígeno puede ser cualquier porción que tenga al menos un parátipo, tal como Fab, F(ab')₂, dsFv, sFv, diacuerpos y triacuerpos.

- 20 En algunas modalidades, los fragmentos de unión al antígeno son las regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada (HCDR, por sus siglas en inglés) 1, 2 y/o 3, las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera (LCDR, por sus siglas en inglés) 1, 2 y/o 3, una región variable de cadena

pesada (VH), o una región variable de cadena ligera (VL), fragmentos de Fab, F(ab')₂, Fd y Fv y anticuerpos de dominio (dAb) que comprenden (p. ej., que consisten en) ya sea un dominio de VH o un dominio de VL. Los dominios de VH y VL pueden enlazarse entre sí a través de un enlazador, p. ej., un enlazador sintético.

5 Las “regiones determinantes de complementariedad (CDR)” son los “sitios de unión al antígeno” en un anticuerpo. Las CDR pueden definirse usando varios términos: (i) Las regiones determinantes de complementariedad (CDR), tres en la VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3), y tres en la VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), están basadas en la variabilidad de la secuencia (Wu and Kabat, J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat et

10 al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.^a Ed. Servicio de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bethesda, Md., 1991). (ii) “Regiones hipervariables”, “HVR” o “HV”, tres en la VH (H1, H2, H3) y tres en la VL (L1, L2, L3), se refiere a las regiones de dominios variables de un anticuerpo cuya estructura es hipervariable, tal como se define por Chothia y Lesk (Chothia and Lesk, Mol Biol

15 196:901-17, 1987). The International ImMunoGeneTics (IMGT) database (http://www_imgt_org) presenta una numeración estandarizada y definición de sitios de unión a antígenos. La correspondencia entre las delineaciones de CDR, HV y IMGT se describe en Lefranc y otros, Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003. El término “CDR”, “HCDR1”, “HCDR2”, “HCDR3”, “LCDR1”, “LCDR2” y “LCDR3”,

20 como se usa en la presente descripción, incluye las CDR definidas por cualquiera de los métodos descritos *anteriormente*, Kabat, Chothia o IMGT, a menos que se mencione explícitamente de cualquier otra manera en la especificación.

También, el anticuerpo, o porción de unión al antígeno de este, puede modificarse para comprender un marcador detectable, tal como, por ejemplo, un radioisótopo, un fluoróforo (p. ej., isotiocianato de fluoresceína (FITC, por sus siglas en inglés), ficoeritrina (PE, por sus siglas en inglés)), una enzima (p. ej., fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante), y partículas elementales (p. ej., partículas de oro).

La presente descripción también proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica cualquiera de los CAR, polipéptidos o proteínas descritos en la presente descripción (que incluyen porciones funcionales y variantes funcionales de estos).

La porción del CAR que comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de este puede existir en una variedad de formas donde el dominio de unión al antígeno se expresa como parte de una cadena polipeptídica contigua que incluye, por ejemplo, un fragmento de anticuerpo de dominio único (sdAb, por sus siglas en inglés), un scFv y un anticuerpo humano quimérico o humanizado (Harlow et al., 1999, *In: Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y.; Harlow y otros, 1989, *In: Anticuerpos: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, N.Y.; Houston et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; Bird et al., 1988, *Science* 242:423-426). En un aspecto, el dominio de unión al antígeno de una composición de CAR de la invención comprende un fragmento de anticuerpo. En un aspecto, el CAR comprende un fragmento de anticuerpo que comprende un scFv.

El término “anticuerpo recombinante” se refiere a un anticuerpo que se genera usando la tecnología de ADN recombinante, tal como, por ejemplo, un anticuerpo expresado por un bacteriófago o sistema de expresión de levadura. El término

también debe interpretarse como un anticuerpo que se ha generado mediante la síntesis de una molécula de ADN que codifica el anticuerpo y cuya molécula de ADN expresa una proteína de anticuerpo, o una secuencia de aminoácidos que especifica el anticuerpo, en donde la secuencia de aminoácidos o de ADN se ha
5 obtenido usando la tecnología de secuencia de aminoácidos o de ADN recombinante que está disponible y se conoce en la técnica.

El término “antígeno” se refiere a una molécula que provoca una respuesta inmunitaria. Esta respuesta inmunitaria puede involucrar ya sea la producción de anticuerpos, o la activación de células competentes inmunológicamente específicas,
10 o ambas. El experto entenderá que cualquier macromolécula, que incluye virtualmente todas las proteínas o péptidos, puede servir como un antígeno. Además, los antígenos pueden derivarse de ADN recombinante o genómico. Un experto entenderá que cualquier ADN, que comprende una secuencia de nucleótidos o una secuencia de nucleótidos parcial que codifica una proteína que provoca una
15 respuesta inmunitaria codifica, por lo tanto, un “antígeno” como se usa ese término en la presente descripción. Además, un experto en la técnica entenderá que un antígeno no necesita codificarse únicamente por una secuencia de nucleótidos de longitud total de un gen. Es evidente que la presente descripción incluye, pero no se limita al, uso de secuencias de nucleótidos parciales de más de un gen y que estas
20 secuencias de nucleótidos se disponen en varias combinaciones para codificar polipéptidos que provocan la respuesta inmunitaria deseada.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR, que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio transmembrana y un dominio

intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

- 5 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

- 10 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

- 15 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

- 20 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 74, y

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 76;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75, y

5 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 77;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 147, y

10 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75, y

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 141;

15 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

20 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 148, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 142;

CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 149, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 143;

5 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 150, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 144;

10 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 151, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 145;

15 CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 152, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 146;

20 una CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 318, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 317;

en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una

5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una

10 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una

15 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una

20 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2, y CDR1, CDR2,

y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende

5 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende

10 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende

15 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende

20 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 74, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una
5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 76.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una
10 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 77.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 147, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una
15 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una
20 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 141.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75, y CDR1,

CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende

5 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 148, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 142

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende

10 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 149, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 143.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende

15 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 150, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 144.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende

20 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 151, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 145.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende la CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 152, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una
5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 146.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de una región variable que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 318, y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena pesada de una región variable que comprende una
10 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 317.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

15 una CDR1 de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la sec. con núm. de ident.: 63, sec. con núm. de ident.: 72, sec. con núm. de ident.: 86, sec. con núm. de ident.: 92, sec. con núm. de ident.: 102, sec. con núm. de ident.: 105, sec. con núm. de ident.: 107, sec. con núm. de ident.: 110, sec. con núm. de ident.: 115, sec. con núm. de ident.: 118, sec.
20 con núm. de ident.: 120, sec. con núm. de ident.: 123, sec. con núm. de ident.: 309, y sec. con núm. de ident.: 314, y modificaciones conservadoras de estas, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 5 una CDR2 de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la sec. con núm. de ident.: 64, sec. con núm. de ident.: 65, sec. con núm. de ident.: 73, sec. con núm. de ident.: 87, sec. con núm. de ident.: 93, sec. con núm. de ident.: 103, sec. con núm. de ident.: 106, sec. con núm. de ident.: 108, sec. con núm. de ident.: 111, sec. con núm. de ident.: 112, sec. 10 con núm. de ident.: 114, sec. con núm. de ident.: 116, sec. con núm. de ident.: 119, sec. con núm. de ident.: 121, sec. con núm. de ident.: 124, sec. con núm. de ident.: 310, y sec. con núm. de ident.: 315, y modificaciones conservadoras de estas, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio 15 extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- una CDR3 de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la sec. con núm. de ident.: 66, sec. con 20 núm. de ident.: 88, sec. con núm. de ident.: 94, sec. con núm. de ident.: 104, sec. con núm. de ident.: 109, sec. con núm. de ident.: 113, sec. con núm. de ident.: 117, sec. con núm. de ident.: 122, y sec. con núm. de ident.: 311, y

modificaciones conservadoras de estas, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 64, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 314, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 315, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 309, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 310, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63,

una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena
5 pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72,
una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena
10 pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 86,
una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 87, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 88;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena
15 pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 92,
una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 93, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 94;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena
20 pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 103, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 106, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 107, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 108, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

10 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 110, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 111, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

15 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 112, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

20 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 114, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

5 115, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 116, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

10 118, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 119, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

15 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

20 123, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 124, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122,

en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que
5 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 64, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una
10 región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 314, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 315, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311.

15 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 309, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 310, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de
20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2

de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una
5 región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66;

10 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 86, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 87, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de
15 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 88.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 92, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 93, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de
20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 94.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 103, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104.

- 5 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 106, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104.

- En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 107, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 108, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109.

- En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 110, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 111, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 112, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 114, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 115, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 116, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 118, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

ident.: 119, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que
 5 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una
 10 región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 123, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 124, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122.

15 En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una CDR1 de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos
 20 seleccionada del grupo que consiste en la sec. con núm. de ident.: 67, sec. con núm. de ident.: 68, sec. con núm. de ident.: 89, sec. con núm. de ident.: 95, sec. con núm. de ident.: 97, sec. con núm. de ident.: 125, sec. con núm. de ident.: 128, sec. con núm. de ident.: 133, sec. con núm. de ident.: 136, y sec. con núm.

de ident.: 312, y modificaciones conservadoras de estas, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una CDR2 de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la sec. con núm. de ident.: 69, sec. con núm. de ident.: 70, sec. con núm. de ident.: 90, sec. con núm. de ident.: 96, sec. con núm. de ident.: 126, sec. con núm. de ident.: 137, sec. con núm. de ident.: 129, sec. con núm. de ident.: 131, sec. con núm. de ident.: 134, sec. con núm. de ident.: 137, y sec. con núm. de ident.: 313, y modificaciones conservadoras de estas, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una CDR3 de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la sec. con núm. de ident.: 71, sec. con núm. de ident.: 91, sec. con núm. de ident.: 130, sec. con núm. de ident.: 132, sec. con núm. de ident.: 135, sec. con núm. de ident.: 138, y sec. con núm. de ident.: 139, y modificaciones conservadoras de estas, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 15 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;
- 20 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 95, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 96, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una
5 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una
10 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una
15 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una
20 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139,

en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 95, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

ident.: 96, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene
5 la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una
10 región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91.

15 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos
20 de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una CDR2 de

cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una
5 región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132.

10 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos
15 de la sec. con núm. de ident.: 135.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de
20 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene

la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139.

- 5 En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que
10 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 64, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:
15 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de
20 cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

5 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

10 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de

15 cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

20 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de

cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 314, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 315, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 103, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 129, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 107, una CDR2 de

5 cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 108, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.

con núm. de ident.: 109, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la

10 sec. con núm. de ident.: 131, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de

cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

15 112, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)

de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 134, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de

20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 115, una CDR2 de

cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

116, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138; o
una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138;

en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 64, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de
- 15 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 20 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de

cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

- 5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de
- 10 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 15 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de
- 20 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 314, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 315, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;
- 10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 103, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 15 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;
- 20 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 107, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 108, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)

de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;

5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 112, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)

10 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

15 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 115, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 116, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

20 ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138;

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138;
- 10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de
- 15 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 20 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de

cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de

10 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

15 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

20 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 309, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 310, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 15 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;
- 20 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 106, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)

de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;

5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 110, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 111, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)

10 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

15 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 114, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

20 ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 118, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 119, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138;
- 10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 123, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 124, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139;
- 15 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 20

de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139; o

- 5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 86, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 87, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 88, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 10 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;
- en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

15

- En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:
- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:
- 20 64, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:
- 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.

con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

5 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.

con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

10 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

15 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.

con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

20 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.
- 10 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.
- 15
- 20 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 314, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

315, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 103, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 107, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 108, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 112, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 10 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 15 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 115, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 116, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 20 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:
una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 120, una CDR2 de
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:
5 121, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.
con núm. de ident.: 122, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de
ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la
sec. con núm. de ident.: 127, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de
10 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:
una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:
15 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.
con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de
cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:
67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.
con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de
20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:
una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que
tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de

cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de

cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.

- 5 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de
- 10 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71.
- 15 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 309, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 310, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 20 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 313, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que
5 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:
106, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.
con núm. de ident.: 104, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de
10 ident.: 128, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la
sec. con núm. de ident.: 129, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de
aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que
15 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 110, una CDR2 de
cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:
111, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.
con núm. de ident.: 109, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de
20 ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la
sec. con núm. de ident.: 131, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de
aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 114, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135.
- 10 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 118, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 119, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138.
- 20 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 123, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

124, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 86, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 87, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 88, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91.

- 5 En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:
- una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 1-3, o una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 4-6, o una combinación de una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 1-3, y una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 4-6, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno une el antígeno de hK2.

- En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:
- 20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada
15 que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 74 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 76; una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con
10 núm. de ident.: 77;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 147 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 141;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 148 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 142;

- 5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 149 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 143;

- 10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 150 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 144;

- 15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 151 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 145;

- 20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 152 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 146;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 318 y una región variable de cadena

pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 317.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos
10 de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que
15 comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que
comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4.

- 20 En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6.

5 En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 74 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 76.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 77.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

- 5 de la sec. con núm. de ident.: 147 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que

- 10 comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 141.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que

comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140.

- 15 En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

de la sec. con núm. de ident.: 148 y una región variable de cadena pesada que

comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 142.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

de la sec. con núm. de ident.: 149 y una región variable de cadena pesada que

comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 143.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 150 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 144.

- 5 En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 151 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 145.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 152 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 146.

En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 318 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 317.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

- 20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia

de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm.

5 de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al
10 menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97,
15 al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al
20 menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65,

al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 6;

- 5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de
- 10 ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm.
- 15 de ident.: 4;

- una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al
- 20 menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91,

al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 5;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97,

al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 5;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 5;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 74 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 74

menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 76;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al
5 menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
10 menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 77;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
15 aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 147 y una región variable de cadena pesada que comprende una
20 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 140;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al
5 menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
10 menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 141;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
15 aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una
20 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 140;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al
5 menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 148 y una región variable de cadena pesada que comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
10 menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 142;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
15 aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 149 y una región variable de cadena pesada que comprende una
20 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 143;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al
5 menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 150 y una región variable de cadena pesada que comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
10 menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 144;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
15 aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 151 y una región variable de cadena pesada que comprende una
20 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 145;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al
5 menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 152 y una región variable de cadena pesada que comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
10 menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 146;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
15 aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 318 y una región variable de cadena pesada que comprende una
20 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 317.

- En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una
- 5 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 1 y una
- 10 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 4.
- 15 En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al
- 20 menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 4.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos
10 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 6.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 3 y una
20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 4.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos

10 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 6.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 3 y una

20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 4.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos
10 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 6.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 3 y una
20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 5.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos
10 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 5.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 2 y una
20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 5.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 74 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos

10 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 76.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 75 y una

20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 77.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 147 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos
10 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 140.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 75 y una
20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 141.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos
10 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 140.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 148 y una
20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 142.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 149 y una
10 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 143.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 150 y una
20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 144.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 151 y una
10 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 145.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una

15 región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 152 y una
20 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al

menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 146.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos

5 que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 318 y una
10 región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 317.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende un

15 scFv. En algunas modalidades, la scFv comprende un polipéptido enlazador entre la región variable de cadena ligera y la región variable de cadena pesada. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno es un scFv que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 8-23, 169-184 y 340-343, y se une específicamente a
20 un polipéptido de hK2 (p. ej., un polipéptido de hK2 humana que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 62, o fragmentos de este).

En los sistemas de expresión recombinantes, el enlazador es un enlazador peptídico y puede incluir cualquier aminoácido de origen natural. Los aminoácidos ilustrativos

que pueden incluirse en el enlazador son Gly, Ser Pro, Thr, Glu, Lys, Arg, Ile, Leu, His y The. El enlazador debe tener una longitud que es adecuada para enlazar el VH y el VL de tal manera que formen la conformación correcta uno en relación con el otro de manera que retienen la actividad deseada, tal como la unión a hK2.

- 5 El enlazador puede tener aproximadamente 5-50 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene aproximadamente 10-40 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene aproximadamente 10-35 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene aproximadamente 10-30 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene
- 10 aproximadamente 10-25 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene aproximadamente 10-20 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene aproximadamente 15-20 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 6 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 7 aminoácidos de largo. En algunas modalidades,
- 15 el enlazador tiene 8 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 9 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 10 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 11 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 12 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 13 aminoácidos de largo. En algunas
- 20 modalidades, el enlazador tiene 14 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 15 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 16 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 17 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 18 aminoácidos

de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 19 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 20 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 21 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 22 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 23 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 24 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 25 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 26 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 27 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 28 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 29 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 30 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 31 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 32 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 33 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 34 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 35 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 36 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 37 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 38 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 39 aminoácidos de largo. En algunas modalidades, el enlazador tiene 40 aminoácidos de largo. Los enlazadores ilustrativos que pueden usarse son enlazadores ricos en Gly, enlazadores que contienen Gly y Ser, enlazadores que contienen Gly y Ala, enlazadores que contienen Ala y Ser, y otros enlazadores flexibles.

- En una modalidad, el polipéptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 7. En una modalidad, el polipéptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 7. En una modalidad, el polipéptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 237-268. En una modalidad, el polipéptido enlazador
- 5 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 237-268.
- 10
- 15 En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 8-23, 169-184 y 340-343. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de
- 20 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 8, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:8. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al

menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 9, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:9. En una modalidad, la scFv

5 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 10, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:10.

10 En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 11, o la secuencia de la sec.

15 con núm. de ident.:11. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

20 ident.: 12, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:12. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al

menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 13, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:13. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 14, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:14. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 15, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:15. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 16, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:16. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 17, o la secuencia de la sec.

con núm. de ident.:17. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 18, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:18. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 19, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:19. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 20, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:20. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 21, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:21. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al

- menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 22, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:22.
- 5 En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 23, o la secuencia de la sec.
- 10 con núm. de ident.:23. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de
- 15 ident.: 169, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:169. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia
- 20 con la sec. con núm. de ident.: 170, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:170. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al

menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 171, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:171. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al

5 menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 172, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:172. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55,

10 al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 173, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:173. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al

15 menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 174, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:174. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de

20 aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

ident.: 175, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:175. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 176, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:176. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 177, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:177. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 178, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:178. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 179, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:179. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al

menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 180, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:180. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 181, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:181. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 182, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:182. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 183, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:183. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al

menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 184, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:184. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 340, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:340. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 341, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:341. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 342, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:342. En una modalidad, la scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al

menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 343, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:343. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende un polipéptido señal. El polipéptido señal puede posicionarse en el terminal N del

5 dominio extracelular de unión al antígeno que se une a hK2. El polipéptido señal puede cortarse opcionalmente del dominio extracelular de unión al antígeno durante el procesamiento celular y la localización del CAR a la membrana celular. Cualquiera de los diversos polipéptidos señal conocidos por un experto en la técnica puede usarse como el polipéptido señal. Los ejemplos no limitantes

10 de péptidos desde los cuales pueden derivarse los polipéptidos señal incluyen FcεR, región variable de cadena pesada (HC) de inmunoglobulina humana (IgG), cD8α, o cualquiera de las diversas proteínas secretadas por las células T. En varias modalidades, el polipéptido señal es compatible con el trayecto secretor de una célula T. En algunas modalidades, el polipéptido señal

15 comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24. En una modalidad, el polipéptido señal comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o

20 al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 24. En un aspecto, la descripción proporciona un CAR que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio de transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno

comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 29-44, 78-81, 221-236, y 273-308. Otra característica del CAR que tiene un dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 29-44, 78-81, 221-236, y 273-308 es que el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

En una modalidad, el dominio intracelular de señalización comprende un componente polipeptídico seleccionado del grupo que consiste en un componente del miembro 9 (CD137) de la superfamilia de receptores del TNF, un componente de la cadena zeta CD3 (CD3z) de la glicoproteína de superficie de células T, un componente del cúmulo de diferenciación (CD27), un componente del miembro de la superfamilia del cúmulo de diferenciación (tal como p. ej., CD28 o coestimulador de células T inducible (ICOS)) y una combinación de estos.

En algunas modalidades, el componente CD137 comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27. En una modalidad, el componente CD137 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 27.

En una modalidad, el componente de la CD3z comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28. En una modalidad, el componente de la CD3z comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al

menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 28.

- 5 En una modalidad, el dominio intracelular de señalización comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 45. En una modalidad, el dominio intracelular de señalización comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 45.

- En una modalidad, el dominio transmembrana comprende un polipéptido de la región transmembrana CD8a (CD8a-TM). En algunas modalidades, el polipéptido de la CD8a-TM comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26. En algunas modalidades, el polipéptido de la CD8a-TM comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 26.

En una modalidad, el dominio transmembrana comprende al menos la(s) región(es) transmembrana de la cadena α , β o ζ del receptor de células T, CD28, CD3 épsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD8 α , CD9, CD16, CD22, CD33, CD37,

CD40, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154. En otra modalidad, el dominio transmembrana comprende al menos el dominio transmembrana de ζ , η o $Fc\epsilon R1\gamma$ y $-\beta$, MB1 ($Ig\alpha.$), B29 o CD3- γ , ζ , o η . En otra modalidad, el dominio transmembrana es sintético, p. ej., que comprende predominantemente residuos

5 hidrófobos tales como leucina y valina, un triplete de fenilalanina, o triptófano.

En una modalidad, el CAR comprende además una región bisagra que enlaza el dominio transmembrana con el dominio extracelular de unión al antígeno. En algunas modalidades, la región bisagra es una región bisagra CD8a. En algunas modalidades, la región bisagra CD8a comprende una secuencia de aminoácidos

10 de la sec. con núm. de ident.: 25. En algunas modalidades, la región bisagra CD8a-TM comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de

15 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 25. En algunas modalidades, la región bisagra comprende la secuencia EPKSCDKTHTCPPCP (sec. con núm. de ident.: 269), o comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o

20 al menos 99 %, de identidad de secuencia con EPKSCDKTHTCPPCP (sec. con núm. de ident.: 269). En algunas modalidades, la región bisagra comprende la secuencia ERKCCVECPPCP (sec. con núm. de ident.: 270), o comprende una

- secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con
- 5 ERKCCVECPPCP (sec. con núm. de ident.: 270). En algunas modalidades, la región bisagra comprende la secuencia
- ELKTPLGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)₃ (sec. con núm. de ident.: 271), o comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de
- 10 identidad de secuencia con ELKTPLGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)₃ (sec. con núm. de ident.: 271). En algunas modalidades, la región bisagra comprende la secuencia ESKYGPPCPSCP (sec. con núm. de ident.: 272), o
- 15 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con ESKYGPPCPSCP (sec. con núm. de ident.: 272).
- 20 En una modalidad, el CAR comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, una región bisagra, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización. En tal modalidad, la región bisagra es una región bisagra CD8 α , el

dominio transmembrana es un dominio CD8 α -TM, y el dominio intracelular de señalización comprende un dominio CD3-zeta y un dominio 4-1BB/CD137.

En una modalidad, la región bisagra es una región bisagra CD8 α que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25, el dominio

5 transmembrana es un dominio CD8 α -TM que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26, y el dominio intracelular de señalización comprende un dominio CD3-zeta y un dominio 4-1BB/CD137 que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 45.

En otra modalidad, la región bisagra es una región bisagra CD8 α que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25, el dominio transmembrana es un dominio CD8 α -TM que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26, y el dominio intracelular de señalización comprende un dominio 4-1BB/CD137 que comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27, y un dominio CD3-zeta que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28.

En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 29-44, 78-81, 221-236, y 273-308. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
20 tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 29, o la

secuencia de la sec. con núm. de ident.:29. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 30, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:30. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 31, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:31. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 32, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:32. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos

99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 33, o la
secuencia de la sec. con núm. de ident.:33. En una modalidad, el dominio
extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos
5 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos
93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos
99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 34, o la
secuencia de la sec. con núm. de ident.:34. En una modalidad, el dominio
extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
10 tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos
75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos
93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos
99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 35, o la
secuencia de la sec. con núm. de ident.:35. En una modalidad, el dominio
15 extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos
75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos
93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos
99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 36, o la
20 secuencia de la sec. con núm. de ident.:36. En una modalidad, el dominio
extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos
75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos

93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 37, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:37. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que

5 tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 38, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:38. En una modalidad, el dominio

10 extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 39, o la

15 secuencia de la sec. con núm. de ident.:39. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos

20 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 40, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:40. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos

75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 41, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:41. En una modalidad, el dominio

5 extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 42, o la

10 secuencia de la sec. con núm. de ident.:42. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos

15 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 43, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:43. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos

20 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 44, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:44. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que

tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 78, o la

5 secuencia de la sec. con núm. de ident.:78. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos

10 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 79, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:79. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos

15 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 80, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:80. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos

20 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 81, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:81. En una modalidad, el dominio

extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 221, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:221. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 222, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:222. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 223, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:223. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 224, o la

secuencia de la sec. con núm. de ident.:224. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 225, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:225. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 226, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:226. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 227, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:227. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos

99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 228, o la
secuencia de la sec. con núm. de ident.:228. En una modalidad, el dominio
extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos
5 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos
93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos
99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 229, o la
secuencia de la sec. con núm. de ident.:229. En una modalidad, el dominio
extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
10 tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos
75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos
93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos
99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 230, o la
secuencia de la sec. con núm. de ident.:230. En una modalidad, el dominio
15 extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos
75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos
93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos
99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 231, o la
20 secuencia de la sec. con núm. de ident.:231. En una modalidad, el dominio
extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que
tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos
75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos

93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 232, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:232. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que

5 tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 233, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:233. En una modalidad, el dominio

10 extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 234, o la

15 secuencia de la sec. con núm. de ident.:234. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos

20 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 235, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:235. En una modalidad, el dominio extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos

75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 236, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:236.

5

Constructos de CAR y CAR que expresan células inmunosensibles

El término “que codifica” se refiere a la propiedad inherente de secuencias específicas de nucleótidos en un polinucleótido, tal como un gen, un ADNc, o un ARNm, para servir como plantillas para la síntesis de otros polímeros y

10 macromoléculas en procesos biológicos que tienen una secuencia definida de nucleótidos (p. ej., ARNr, ARNt y ARNm) o una secuencia definida de aminoácidos y las propiedades biológicas resultantes de esta. Por lo tanto, un gen, ADNc, o ARN, codifica una proteína si la transcripción y traducción de ARNm que corresponde a ese gen produce la proteína en una célula u otro

15 sistema biológico. Puede hacerse referencia a que tanto la cadena codificante, cuya secuencia de nucleótidos es idéntica a la secuencia de ARNm, como la cadena no codificante, usada como plantilla para la transcripción de un gen o ADNc, codifica la proteína u otro producto de ese gen o ADNc.

A menos que se especifique de cualquier otra manera, una “secuencia de

20 nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos” incluye todas las secuencias de nucleótidos que son versiones redundantes entre sí y que codifican la misma secuencia de aminoácidos. La secuencia de nucleótidos de frase que codifica una proteína o un ARN también puede incluir intrones en la

medida en que la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína pueda contener en alguna versión uno(s) intrón(es).

El término “vector de expresión” se refiere a un vector que comprende un polinucleótido recombinante que comprende secuencias de control de expresión

5 conectadas operativamente a una secuencia de nucleótidos que se expresará. Un vector de expresión comprende suficientes elementos que actúan en cis para la expresión; otros elementos para la expresión pueden suministrarse mediante la célula huésped o en un sistema de expresión *in vitro*. Los vectores de expresión incluyen todos aquellos conocidos en la técnica, que incluyen cósmidos, plásmidos

10 (p. ej., desnudos o contenidos en liposomas) y virus (p. ej., lentivirus, retrovirus, adenovirus, y virus adenoasociados) que incorporan el polinucleótido recombinante. En una modalidad, la presente descripción proporciona una célula que expresa la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR. En una modalidad, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos

15 seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 46-61, 82-85 y 205-220. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al

20 menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 46, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 46. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al

menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 47, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 47. En

5 algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.

10 con núm. de ident.: 48, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 48. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

15 menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 49, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 49. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al

20 menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 50, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 50. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una

secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 51, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 51. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 52, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 52. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 53, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 53. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 54, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 54. En

algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al
menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al
5 menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.
con núm. de ident.: 55, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 55. En
algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al
10 menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al
menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.
con núm. de ident.: 56, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 56. En
algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
15 menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al
menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al
menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.
con núm. de ident.: 57, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 57. En
algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una
20 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al
menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al
menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.

con núm. de ident.: 58, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 58. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 59, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 59. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 60, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 60. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 61, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 61. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 82, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 82. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 83, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 83. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 84, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 84. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 85, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 85. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al

menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 205, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 205. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una

5 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 206, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 206. En

10 algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.

15 con núm. de ident.: 207, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 207. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

20 menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 208, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 208. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al

menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 209, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 209. En

5 algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.

10 con núm. de ident.: 210, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 210. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

15 menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 211, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 211. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al

20 menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 212, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 212. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una

secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 213, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 213. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 214, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 214. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 215, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 215. En algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 216, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 216. En

algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al
menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al
5 menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.
con núm. de ident.: 217, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 217. En
algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al
10 menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al
menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.
con núm. de ident.: 218, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 218. En
algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una
secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
15 menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al
menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al
menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec.
con núm. de ident.: 219, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 219. En
algunas modalidades, el CAR de la presente descripción comprende una
20 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al
menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al
menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al

menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 220, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 220.

En ciertas modalidades, el CAR puede comprender un polipéptido señal. En ciertas modalidades, el péptido señal está en el N-terminal de la secuencia de

5 CAR. En ciertas modalidades, el péptido señal está en el C-terminal de la secuencia de CAR. En ciertas modalidades, el péptido señal comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24.

En la presente descripción, la estructura de las moléculas de ácido nucleico se

10 encuentra en lugares definidos en base del % de identidad de secuencia con una secuencia de referencia mencionada (con una sec. con núm. de ident. dada). En este contexto, el % de identidad de secuencia con respecto a las moléculas de ácido nucleico se refiere a la similitud entre al menos dos secuencias de ácido nucleico diferentes. Cuando una posición en ambas secuencias comparadas está ocupada

15 por la misma base, p. ej., si una posición en cada una de las dos moléculas de ADN está ocupada por adenina, después las moléculas son idénticas en esa posición. El porcentaje de identidad entre dos secuencias es una función del número de posiciones coincidentes u homólogas compartidas por las dos secuencias dividido

entre el número de posiciones comparadas y multiplicado por 100. Por ejemplo, si 6

20 de 10 de las posiciones en dos secuencias son coincidentes u homólogas, después las dos secuencias son 60 % idénticas (u homólogas). Como ejemplo, las secuencias de ADN ATTGCC y TATGGC comparten 50 % de identidad (u homología).

Generalmente, se realiza una comparación cuando dos secuencias se alinean para

dar la homología máxima. El porcentaje de identidad respectivo puede determinarse mediante algoritmos de alineamiento estándar, por ejemplo, la herramienta de búsqueda de alineamiento local básico (BLAST, por sus siglas en inglés) descrita por Altshul et al. ((1990) J. Mol. Biol. 215:403-10); the algorithm of Needleman et al. ((1970) J. Mol. Biol. 48:444-53); o the algorithm of Meyers et al. ((1988) Comput. Solic. Biosci. 4:11-17). Un conjunto de parámetros puede ser la matriz de puntuación Blosum 62 con una penalización por interrupción de 12, una penalización por extensión de interrupción de 4, y una penalización por interrupción de desplazamiento del marco de lectura de 5. El porcentaje de identidad entre dos

10 secuencias de aminoácidos también puede determinarse usando el algoritmo de Meyers y Miller ((1989) CABIOS 4:11-17), que se ha incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), usando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización por longitud de interrupción de 12, y una penalización por interrupción de 4. El porcentaje de identidad se calcula, usualmente, al comparar secuencias de longitud similar.

15

En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 153-160. En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos

20 nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al

menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 153-160.

En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos de una cualquiera de las

5 sec. con núms. de ident.: 161-168. En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al
10 menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 161-168.

En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 195-204. En varias modalidades, la molécula de ácido

15 nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de
20 secuencia con una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 195-204.

En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 320-325. En varias modalidades, la molécula de ácido

nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 320-325.

En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 326-331. En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 326-331.

En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 336-339. En varias modalidades, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al

menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 336-339.

En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR

comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que

5 tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 153, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:153. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se

10 codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

15 ident.: 154, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:154. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia

20 con la sec. con núm. de ident.: 155, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:155.

En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR

comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que

tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 156, o la secuencia de la

5 sec. con núm. de ident.:156. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al

10 menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 157, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:157. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85,

15 al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 158, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:158. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que

20 tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 159, o la secuencia de la

sec. con núm. de ident.:159. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 160, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:160. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 161, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:161. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 162, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:162. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al

menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 163, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:163. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia

5 de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 164, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:164.

10 En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %,

15 de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 165, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:165. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al

20 menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 166, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:166. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia

de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia

5 con la sec. con núm. de ident.: 167, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:167. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93,

10 al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 168, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:168. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al

15 menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 195, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:195. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia

20 de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia

con la sec. con núm. de ident.: 196, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:196.

En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR

comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que

tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos

5 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93,

al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %,

de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 197, o la secuencia de la

sec. con núm. de ident.:197. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se

codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende

10 una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al

menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al

menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al

menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

ident.: 198, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:198. En una modalidad, la

15 molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia

de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos

55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85,

al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al

menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia

20 con la sec. con núm. de ident.: 199, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:199.

En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR

comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que

tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos

75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 200, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:200. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se

5 codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

10 ident.: 201, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:201. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al

15 menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 202, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:202. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos

20 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 203, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:203. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se

codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 204, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:204. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 320, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:320. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 321, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:321. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al

menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 322, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:322. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 323, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:323. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 324, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:324. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 325, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:325. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos

55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 326, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:326.

5 En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %,

10 de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 327, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:327. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

15 ident.: 328, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:328. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos

20 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 329, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:329.

En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 330, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:330. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 331, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:331. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 336, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:336.

En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93,

al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 337, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:337. En una modalidad, la molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende

5 una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 338, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:338. En una modalidad, la

10 molécula de ácido nucleico que se codifica para un CAR comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una secuencia que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia

15 con la sec. con núm. de ident.: 339, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.:339. En un aspecto, la presente descripción proporciona células inmunosensibles aisladas que comprenden los CAR descritos en la presente descripción. En algunas modalidades, la célula inmunosensible aislada se transduce con el CAR, por ejemplo, el CAR se expresa constitutivamente en la superficie de la célula

20 inmunosensible. En ciertas modalidades, la célula inmunosensible aislada se transduce además con al menos un ligando coestimulador, de tal manera que la célula inmunosensible exprese el al menos un ligando coestimulador. En ciertas modalidades, el al menos un ligando coestimulador se selecciona del grupo que

consiste en 4-1BBL, CD48, CD70, CD80, CD86, OX40L, TNFRSF14, y combinaciones de estos. En ciertas modalidades, la célula inmunosensible aislada se transduce además con al menos una citocina, de tal manera que la célula inmunosensible secrete la al menos una citocina. En ciertas modalidades, la al menos citocina se selecciona del grupo que consiste en IL-2, IL-3, IL-6, IL-7, IL-11, IL-12, IL-15, IL-17, IL-21, y combinaciones de estas. En alguna modalidad, la célula inmunosensible aislada se selecciona del grupo que consiste en un linfocito T (célula T), una célula destructora natural (NK), un linfocito T citotóxico (CTL, por sus siglas en inglés), una célula T reguladora, una célula madre embrionaria humana, una célula progenitora linfoide, una célula precursora de células T, y una célula madre pluripotente de la cual pueden diferenciarse células linfoides.

En una modalidad, las células CAR-T de la descripción pueden generarse mediante la introducción de un vector lentiviral que comprende un CAR deseado, por ejemplo, un CAR que comprende dominios anti-hK2, bisagra CD8 α y transmembrana, y dominios de señalización 4-1BB y CD3-zeta humanos, en las células. Las células CAR-T de la invención pueden replicarse *in vivo*, lo que resulta en persistencia a largo plazo que puede conducir a un control tumoral sostenido.

Las modalidades de la invención proporcionan además células huésped que comprenden una cualquiera de los vectores de expresión recombinantes descritos en la presente descripción. Como se usa en la presente descripción, el término “célula huésped” se refiere a cualquier tipo de célula que puede contener el vector de expresión recombinante. La célula huésped puede ser una célula eucariótica, p. ej., planta, animal, o algas, hongos, o puede ser una célula procariota, p. ej.,

bacteria o protozoo. La célula huésped puede ser una célula cultivada o una célula primaria, es decir, aislada directamente de un organismo, p. ej., un ser humano. La célula huésped puede ser una célula adherente o una célula suspendida, es decir, una célula que crece en suspensión. Las células huésped adecuadas se conocen

5 en la técnica e incluyen, por ejemplo, células DH5 α de *E. coli*, células de ovario de hámster chino, células VERO de mono, células COS, células HEK293 y lo similar. Para los propósitos de amplificar o replicar el vector de expresión recombinante, la célula huésped puede ser una célula procariota, p. ej., una célula DH5 α . Para los propósitos de producir un CAR, polipéptido o proteína recombinante, la célula

10 huésped puede ser una célula de mamífero. La célula huésped puede ser una célula humana. Si bien la célula huésped puede ser de cualquier tipo de célula, puede originarse a partir de cualquier tipo de tejido, y puede ser de cualquier etapa de desarrollo, la célula huésped puede ser un linfocito de sangre periférica (PBL, por sus siglas en inglés). La célula huésped puede ser una célula T.

15 Para fines de la presente descripción, la célula T puede ser cualquier célula T, tal como una célula T cultivada, p. ej., una célula T primaria, o una célula T de una línea de células T cultivadas, p. ej., Jurkat, SupT1, etc., o una célula T obtenida de un mamífero. Si se obtiene de un mamífero, la célula T puede obtenerse de fuentes numerosas, que incluye pero no se limita a médula ósea, sangre, ganglio linfático,

20 el timo, u otros tejidos o fluidos. Las células T también pueden enriquecerse o purificarse. La célula T puede ser una célula T humana. La célula T puede ser una célula T aislada de un ser humano. La célula T puede ser cualquier tipo de célula T y puede ser de cualquier etapa de desarrollo, que incluye pero no se limita a células

T doble positivas CD4⁺/CD8⁺, células T CD8⁺ (p. ej., células T citotóxicas), células T colaboradoras CD4⁺, p. ej., células Th1 y Th2, células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés), leucocitos sanguíneos periféricos (PBL), células infiltrantes de tumores, células T de memoria, células T vírgenes y lo
5 similar. La célula T puede ser una célula T CD8⁺ o una célula T CD4⁺.

También se proporciona una población de células que comprende al menos una célula huésped descrita en la presente descripción. La población de células puede ser una población heterogénea que comprende la célula huésped que comprende una cualquiera de los vectores de expresión recombinantes
10 descritos, además de al menos otra célula, p. ej., una célula huésped (p. ej., una célula T), que no comprende ninguno de los vectores de expresión recombinantes, o una célula distinta de una célula T, p. ej., una célula B, un macrófago, un eritrocito, un neutrófilo, un hepatocito, una célula endotelial, una célula epitelial, una célula muscular, una célula cerebral, etc. Alternativamente,
15 la población de células puede ser una población sustancialmente homogénea, en la que la población comprende principalmente células huésped (p. ej., que consisten esencialmente en) que comprenden el vector de expresión recombinante. La población también puede ser una población clonal de células, en la que todas las células de la población son clones de una única célula
20 huésped que comprende un vector de expresión recombinante, de tal manera que todas las células de la población comprenden el vector de expresión recombinante. En una modalidad, la población de células es una población

clonal que comprende células huésped que comprenden un vector de expresión recombinante como se describe en la presente descripción.

Composiciones farmacéuticas/administración

5 En modalidades de la presente descripción, las células que expresan CAR pueden proporcionarse en composiciones, p. ej., composición(es) farmacéutica(s) adecuada(s) que comprende(n) las células que expresan CAR y un portador farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, la presente descripción proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de un linfocito
10 que expresa uno o más de los CAR descritos y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden comprender una célula que expresa CAR, p. ej., una pluralidad de células que expresan CAR, como se describe en la presente descripción, en combinación con uno o más portadores, excipientes o diluyentes farmacéutica o fisiológicamente
15 aceptables. Como se usa en la presente descripción, el término “**en combinación con**” significa que dos o más agentes terapéuticos se administran a un sujeto juntos en una mezcla, simultáneamente como agentes únicos o secuencialmente como agentes únicos en cualquier orden.

Un portador farmacéuticamente aceptable puede ser un ingrediente en una
20 composición farmacéutica, distinto de un ingrediente activo, que es no tóxico para un sujeto.

Un portador farmacéuticamente aceptable puede incluir, pero no se limita a, un regulador, excipiente, estabilizador, o conservante. Los ejemplos de portadores

- farmacéuticamente aceptables son solventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardadores de absorción e isotónicos, y lo similar que sean fisiológicamente compatibles, tales como sales, reguladores, antioxidantes, sacáridos, portadores acuosos o no acuosos,
- 5 conservantes, agentes humectantes, surfactantes o agentes emulsionantes, o combinaciones de estos. Las cantidades de los portadores farmacéuticamente aceptables en las composiciones farmacéuticas puede determinarse experimentalmente basado en las actividades de los portadores y las características deseadas de la formulación, tales como estabilidad y/u oxidación mínima.
- 10 Tales composiciones pueden comprender reguladores tales como ácido acético, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido succínico, ácido fosfórico, ácido carbónico, ácido málico, ácido aspártico, histidina, ácido bórico, reguladores Tris, HEPPSO, HEPES, solución salina regulada neutra, solución salina regulada con fosfato y lo similar; carbohidratos tales como glucosa, manosa, sacarosa o dextranos,
- 15 manitol; proteínas; polipéptidos o aminoácidos tales como glicina; antioxidantes; agentes quelantes, tales como EDTA o glutatión; adyuvantes (p. ej., hidróxido de aluminio); agentes antibacterianos y antifúngicos; y conservantes.

Las composiciones de la presente descripción pueden formularse para una variedad de medios de administración parenteral o no parenteral. En una modalidad, las

20 composiciones pueden formularse para administración intravenosa o infusión. Las composiciones descritas en la presente descripción pueden proporcionarse, por ejemplo, como preparaciones líquidas estériles, p. ej., soluciones acuosas isotónicas, emulsiones, suspensiones, dispersiones, o composiciones viscosas, que pueden

regularse en un pH deseado. Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden incluir soluciones líquidas, cápsulas, sobres, comprimidos, pastillas y grageas, suspensiones líquidas en polvo en un líquido y emulsiones adecuados.

El término “farmacéuticamente aceptable”, como se usa en la presente

5 descripción con respecto a composiciones farmacéuticas, significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o enumerado en la Farmacopea de los EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para usarse en animales y/o en humanos.

En un aspecto, la descripción se relaciona con la administración de una célula T
10 modificada genéticamente que expresa un CAR para el tratamiento de un sujeto que tiene cáncer o que está en riesgo de tener cáncer usando infusión de linfocitos. En al menos una modalidad, la infusión de linfocitos autólogos se usa en el tratamiento.

Las PBMC autólogas se recolectan de un sujeto que necesita tratamiento y las células T se activan y expanden usando los métodos descritos en la presente
15 descripción y conocidos en la técnica y después se infunden de nuevo en el sujeto.

En un aspecto, la descripción se relaciona con, generalmente, al tratamiento de un sujeto en riesgo de desarrollar cáncer. La invención también incluye tratar una malignidad o una enfermedad autoinmune en la que la quimioterapia y/o inmunoterapia en un sujeto resulta en inmunosupresión significativa, lo que
20 aumenta, de esta manera, el riesgo de que el sujeto desarrolle cáncer. En un aspecto, la presente descripción proporciona métodos para prevenir el cáncer, los métodos que comprenden administrar una cantidad de un linfocito que expresa uno o más de los CAR descritos a un sujeto que lo necesita.

En un aspecto, la presente descripción proporciona métodos para tratar a un sujeto que tiene cáncer, los métodos que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un linfocito que expresa uno o más de los CAR descritos a un sujeto que lo necesita, mediante el cual el linfocito induce o modula la destrucción de células cancerosas en el sujeto.

En otro aspecto, la presente descripción proporciona métodos para reducir la carga tumoral en un sujeto que tiene cáncer, los métodos que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un linfocito que expresa uno o más de los CAR descritos en la presente descripción a un sujeto que lo necesita, mediante el cual el linfocito induce la destrucción de células cancerosas en el sujeto. En otro aspecto, la presente descripción proporciona métodos para aumentar la supervivencia de un sujeto que tiene cáncer, los métodos que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un linfocito que expresa uno o más de los CAR descritos a un sujeto que lo necesita, mediante el cual se alarga la supervivencia del sujeto. Generalmente, los linfocitos que expresan el(los) CAR inducen la destrucción de células cancerosas en el sujeto y resultan en la reducción o erradicación de los tumores/células cancerosas en el sujeto. Una lista no limitante de cánceres, con lesiones metastásicas, que puede dirigirse, incluye el cáncer de próstata y el cáncer derivado de la próstata. En una modalidad, el cáncer que se trata en un sujeto es el cáncer de próstata. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de mama que expresa el receptor androgénico (RA).

En un aspecto, los métodos descritos en la presente descripción son aplicables al tratamiento de condiciones no cancerosas que corren el riesgo de convertirse

en una condición cancerosa, tal como, p. ej., próstata agrandada, hiperplasia prostática benigna (BPH, por sus siglas en inglés) y niveles altos de PSA en ausencia de cáncer de próstata diagnosticado.

En un aspecto, se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que tiene cáncer que

5 comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un linfocito que expresa un CAR, el CAR tiene un dominio extracelular de unión al antígeno que se une al antígeno hK2, a un sujeto que lo necesita, mediante el cual el linfocito induce la destrucción de las células cancerosas en el sujeto. En algunas modalidades, el al menos uno de los CAR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del

10 grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 46-61, 82-85 y 205-220. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de

15 identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 46, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 46. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al

20 menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 47, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 47. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85,

al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 48, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 48. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que

5 tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 49, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 49. En algunas modalidades, el CAR comprende una

10 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 50, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 50. En algunas

15 modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 51, o la secuencia de la sec. con núm. de

20 ident.: 51. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al

menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 52, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 52. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 53, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 53. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 54, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 54. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 55, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 55. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 56, o la secuencia de la sec. con núm. de

ident.: 56. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 57, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 57. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 58, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 58. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 59, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 59. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 60, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 60. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos

50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 61, o la secuencia de la sec. con núm. de

5 ident.: 61. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

10 ident.: 82, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 82. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia

15 con la sec. con núm. de ident.: 83, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 83. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %,

20 de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 84, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 84. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al

menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 85, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 85. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos

5 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 205, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 205. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de

10 aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 206, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 206. En algunas

15 modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 207, o la secuencia de la sec. con núm. de

20 ident.: 207. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al

menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 208, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 208. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 209, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 209. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 210, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 210. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 211, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 211. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de

ident.: 212, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 212. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 213, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 213. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 214, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 214. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 215, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 215. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 216, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 216. En algunas

modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de

5 secuencia con la sec. con núm. de ident.: 217, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 217. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al

10 menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 218, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 218. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al menos 92, al menos 93, al menos 94, al

15 menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 219, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 219. En algunas modalidades, el CAR comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 50, al menos 55, al menos 60, al menos 65, al menos 70, al menos 75, al menos 80, al menos 85, al menos 90, al menos 91, al

20 menos 92, al menos 93, al menos 94, al menos 95, al menos 96, al menos 97, al menos 98 o al menos 99 %, de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 220, o la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 220.

En un aspecto, se describe un método para la destrucción dirigida de una célula cancerosa, el método comprende poner en contacto la célula cancerosa con un linfocito que expresa uno o más de los CAR descritos, por lo que el linfocito induce la destrucción de la célula cancerosa. Una lista no limitante de células cancerosas, que incluye células cancerosas metastásicas, que pueden dirigirse, incluye el cáncer de próstata y combinaciones de este. En una modalidad, la célula cancerosa es una célula de cáncer de próstata.

Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden administrarse de una manera adecuada para la enfermedad a tratar (o prevenir).

10 La cantidad y frecuencia de administración se determinará por tales factores como la condición del sujeto, y el tipo y gravedad de la enfermedad del sujeto, aunque las dosificaciones adecuadas pueden determinarse por ensayos clínicos.

Los términos “tratar” o “tratamiento” se refiere al tratamiento terapéutico en donde el objetivo es enlentecer (disminuir) un cambio fisiológico o enfermedad no

15 deseados, o proporcionar un resultado clínico beneficioso o deseado durante el tratamiento. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen el alivio de los síntomas, la reducción del alcance de la enfermedad, el estado estable (es decir, que no empeora) de la enfermedad, el retardo o retraso del avance de la enfermedad, la mejora o alivio del estado de la enfermedad, y/o la remisión (parcial

20 o total), ya sea detectable o no. “Tratamiento” también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada, si el sujeto no recibe tratamiento. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen a aquellos sujetos que ya

tienen la enfermedad o el cambio fisiológico no deseado así como a aquellos sujetos propensos a tener la enfermedad o el cambio fisiológico.

“Prevenir”, “que previene”, “prevención” o “profilaxis” de una enfermedad o trastorno significa prevenir que ocurra un trastorno en un sujeto. Una “cantidad terapéuticamente eficaz” o “cantidad eficaz”, usadas indistintamente en la presente descripción, se refiere a una cantidad eficaz, en las dosificaciones y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo, el peso del individuo, y la capacidad de un agente terapéutico o una combinación de agentes terapéuticos para inducir una respuesta deseada en el individuo. Los indicadores ilustrativos de una terapia eficaz o combinación de terapias que incluyen, por ejemplo, mayor bienestar del paciente, reducción de la carga tumoral, detención o reducción retrasada de un tumor, y/o la ausencia de metástasis de células de cáncer a otras ubicaciones en el cuerpo.

Como se usa en la presente descripción, el término “sujeto” se refiere a un animal. Los términos “sujeto” y “paciente” pueden usarse indistintamente en la presente descripción en referencia a un sujeto. Como tal, un “sujeto” incluye un ser humano que se trata por una enfermedad, o prevención de una enfermedad, como un paciente. Los métodos descritos en la presente descripción pueden usarse para tratar un animal perteneciente a cualquier clasificación. Los ejemplos de tales animales incluyen mamíferos. Los mamíferos, incluyen, pero no se limitan a, mamíferos del orden Rodentia, tales como ratones y hámsteres, y mamíferos del orden Logomorpha, tales como conejos. Los mamíferos pueden ser del orden

Carnivora, que incluyen felinos (gatos) y caninos (perros). Los mamíferos pueden ser del orden Artiodactyla, que incluye bovinos (vacas) y porcinos (cerdos) o del orden Perssodactyla, que incluye equinos (caballos). Los mamíferos pueden ser del orden Primates, Ceboidea o Simioides (monos) o del orden Antropoides

5 (humanos y simios). En una modalidad, el mamífero es un ser humano.

Cuando se indica una cantidad terapéuticamente eficaz, la cantidad precisa de las composiciones de la presente descripción que se administrará puede determinarse por un médico considerando las diferencias individuales en la edad, peso, tamaño del tumor, grado de infección o metástasis, y condición del sujeto. Generalmente, puede

10 decirse que una composición farmacéutica que comprende las células T descritas en la presente descripción puede administrarse a una dosificación de aproximadamente 10^4 a aproximadamente 10^{10} células/kg de peso corporal, en algunos casos, de aproximadamente 10^5 a aproximadamente 10^6 células/kg de peso corporal, que incluye todos los valores enteros dentro de esos rangos. En algunas modalidades,

15 una composición farmacéutica que comprende las células T descritas en la presente descripción puede administrarse a una dosificación de aproximadamente 10^6 células/kg de peso corporal. Las composiciones de células T también pueden administrarse múltiples veces en estas dosificaciones. Las células pueden administrarse usando técnicas de infusión que son comúnmente conocidas en

20 inmunoterapia (ver, p. ej., Rosenberg et al., *New Eng. J. of Med.* 319:1676, 1988).

Los sistemas de suministro útiles en el contexto de las modalidades de la invención pueden incluir sistemas de suministro de liberación prolongada, liberación retardada y liberación sostenida, de tal manera que el suministro de

las composiciones de células T se produzca antes, y con el tiempo suficiente para provocar, la sensibilización del sitio a tratar. La composición puede usarse en conjunto con otros agentes terapéuticos o terapias. Tales sistemas pueden evitar administraciones repetidas de la composición, lo que aumenta, de esta

5 manera, la comodidad para el sujeto y el médico, y pueden ser particularmente adecuados para ciertas modalidades de la composición de la invención.

Muchos tipos de sistemas de suministro de liberación están disponibles y son conocidos por los expertos en la técnica. Estos incluyen sistemas de base polimérica tales como poli(lactida-glicolida), copolioxalatos, poliesteramidas,

10 poliortoésteres, policaprolactonas, ácido polihidroxibutírico, y polianhídridos. Las microcápsulas de los polímeros anteriores que contienen fármacos se describen, por ejemplo, en la patente de los EE. UU. núm. 5.075.109. Los sistemas de suministro también incluyen sistemas no poliméricos que son lípidos que incluyen esteroides, tales como colesterol, ésteres de colesterol, y ácidos grasos

15 o grasas neutras, tales como mono-, di- y triglicéridos; sistemas silásticos; sistemas a base de péptidos; sistemas de liberación de hidrogel; revestimientos de cera; tabletas comprimidas que usan aglutinantes y excipientes convencionales; implantes parcialmente fusionados; y lo similar. Los ejemplos específicos incluyen, pero no se limitan a: (a) sistemas erosionales en los que la

20 composición activa está contenida en una forma dentro de una matriz, tales como aquellos descritos en las patentes de los EE. UU. núms. 4.452.775; 4.667.014; 4.748.034; y 5.239.660, y (b) sistemas difusionales en los que un componente activo penetra a una velocidad controlada a partir de un polímero

tal como se describe en las patentes de los EE. UU. núms. 3.854.480 y 3.832.253. Además, pueden usarse sistemas de suministro de hardware basados en bombas, algunos de los cuales se adaptan para la implantación. En ciertos aspectos, puede ser deseable administrar células T activadas a un

5 sujeto y, después, extraer nuevamente sangre (o realizar una aféresis), activar las células T, de acuerdo con la presente descripción, y reforzar al sujeto con estas células T activadas y expandidas. Este proceso puede llevarse a cabo múltiples veces cada pocas semanas. En ciertos aspectos, las células T pueden activarse a partir de extracciones de sangre de 10 cc a 400 cc. En ciertos

10 aspectos, las células T se activan a partir de extracciones de sangre de 20 cc, 30 cc, 40 cc, 50 cc, 60 cc, 70 cc, 80 cc, 90 cc, o 100 cc.

La administración de las células CAR-T y las composiciones puede realizarse de cualquier manera, p. ej., mediante administración parenteral o no parenteral, que incluye inhalación de aerosol, inyección, infusiones, ingestión, transfusión,

15 implantación o trasplante. Por ejemplo, las células CAR-T y las composiciones descritas en la presente descripción pueden administrarse a un paciente por vía transarterial, intradérmica, subcutánea, intratumoral, intramedular, intranasal, intramuscular, por inyección intravenosa (i.v.), o intraperitoneal. En un aspecto, las composiciones de la presente descripción se administran mediante inyección

20 i.v.. En un aspecto, las composiciones de la presente descripción se administran a un sujeto mediante inyección intradérmica o subcutánea. Las composiciones de células T pueden inyectarse, por ejemplo, directamente en un tumor, ganglio linfático, tejido, órgano, o sitio de infección.

La administración puede ser autóloga o no autóloga. Por ejemplo, las células inmunosensibles que expresan un CAR específico de calicreína humana 2 (p. ej., hK2) puede obtenerse de un sujeto, y puede administrarse al mismo sujeto o a un sujeto compatible diferente. Las células T derivadas de sangre periférica de la presente descripción, o células T expandidas (p. ej., derivadas *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*) pueden administrarse mediante, p. ej., inyección intravenosa, inyección localizada, inyección sistémica, administración por catéter, o administración parenteral.

En modalidades particulares, los sujetos pueden someterse a leucaféresis, en donde los leucocitos se recolectan, se enriquecen o se agotan *ex vivo* para seleccionar y/o aislar las células de interés, p. ej., células T. Estos aislados de células T pueden expandirse mediante métodos conocidos en la técnica y tratarse, de tal manera que puedan introducirse uno o más constructos de CAR de la presente descripción, creando de esta manera una célula CAR-T. Los sujetos que lo necesitan pueden someterse a un tratamiento estándar con quimioterapia en dosis altas seguido por trasplante de células madre de sangre periférica. En ciertos aspectos, después o simultáneamente con el trasplante, los sujetos reciben una infusión de las células CAR-T expandidas. En un aspecto, las células expandidas se administran antes o después de la cirugía.

La dosificación administrada a un paciente que tiene una malignidad es suficiente para aliviar o al menos detener parcialmente la enfermedad que se trata (“cantidad terapéuticamente eficaz”). La dosificación de los tratamientos anteriores que se administrarán a un sujeto variará con la naturaleza precisa de

la afección que se trata y el receptor del tratamiento. La escala de dosificaciones para la administración en humanos puede realizarse de acuerdo con prácticas generalmente aceptadas en la técnica.

Las células CAR-T de la invención pueden experimentar expansión de células T *in vivo* y pueden establecer células de memoria específicas de hK2 que persisten a niveles altos durante una cantidad prolongada de tiempo en sangre y médula ósea. En algunos casos, las células CAR-T de la invención infundidas en un sujeto pueden eliminar las células cancerosas, p. ej., las células cancerosas prostáticas o cáncer de mama que expresa AR, *in vivo* en sujetos con cáncer avanzado resistente a la quimioterapia.

En una modalidad, un CAR de la presente descripción se introduce en células T, p. ej., usando transcripción *in vitro*, y el sujeto (p. ej., humano) recibe una administración inicial de células CAR-T de la descripción, y una o más administraciones posteriores de las células CAR-T, en donde la una o más administraciones posteriores se administran menos que 15 días, p. ej., 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, o 2 días después de la administración previa. En una modalidad, se administra más de una administración de las células CAR-T al sujeto (p. ej., un ser humano) por semana, se administran, p. ej., 2, 3 o 4 administraciones de las células CAR-T por semana. En una modalidad, el sujeto recibe más de una administración de las células CAR-T por semana (p. ej., 2, 3 o 4 administraciones por semana) (también denominadas en la presente descripción ciclo), seguido de una semana sin administraciones de células CAR-T y, después, se administra al sujeto una o más administraciones adicionales de las células CAR-T (p. ej., más de una administración de las células CAR-T por

semana). En otra modalidad, el sujeto recibe más de un ciclo de células CAR-T, y el tiempo entre cada ciclo es menor que 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, o 3 días. En una modalidad, las células CAR-T se administran cada dos días durante 3 administraciones por semana. En una modalidad, las células CAR-T se administran durante al menos dos, 5 tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más semanas.

En una modalidad, la administración puede repetirse después de un día, dos días, tres días, cuatro días, cinco días, seis días, una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, cinco semanas, seis semanas, siete semanas, dos meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses o más. Los cursos de tratamiento 10 repetidos también son posibles, como lo es la administración crónica. La administración repetida puede ser a la misma dosis o a una dosis diferente.

Las células CAR-T pueden administrarse en los métodos de la invención mediante terapia de mantenimiento, tal como, p. ej., una vez a la semana durante un periodo de 6 meses o más.

15 En una modalidad, las células CAR-T se generan usando vectores virales lentivirales, tales como lentivirus. Las células CAR-T generadas con tales vectores virales tendrán, generalmente, una expresión estable de CAR.

En una modalidad, las células CAR-T expresan transitoriamente vectores de CAR durante 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 días después de la 20 transducción. La expresión transitoria de los CAR puede verse afectada por el suministro del vector de ARN de CAR. En una modalidad, el ARN de CAR se transduce en la célula T mediante electroporación.

Si un paciente corre alto riesgo de generar una respuesta de anticuerpos anti-CAR durante el curso de la terapia transitoria con CAR (tales como aquellas generadas por transducciones de ARN), las rupturas en la infusión de CAR-T no deberían durar más de diez a catorce días.

- 5 Una célula que expresa CAR descrita en la presente descripción puede usarse en combinación con otros agentes y terapias conocidos. Administrado “en combinación”, como se usa en la presente descripción, significa que dos (o más) tratamientos diferentes se suministran al sujeto durante el transcurso del tratamiento del sujeto, p. ej., los dos o más tratamientos se suministran después de que el sujeto
- 10 ha sido diagnosticado con el cáncer y antes de que el cáncer se haya curado o eliminado o cesado el tratamiento por otras razones. En algunas modalidades, el suministro de un tratamiento todavía ocurre cuando comienza el suministro del segundo, de manera que hay superposición en términos de administración. Algunas veces esto se menciona en la presente descripción como “simultáneo” o “suministro
- 15 concurrente”. En otras modalidades, el suministro de un tratamiento termina antes de que comience el suministro del otro tratamiento. En algunas modalidades de cualquier caso, el tratamiento es más eficaz debido a la administración combinada. Por ejemplo, el segundo tratamiento es más eficaz, p. ej., se observa un efecto equivalente con menos del segundo tratamiento, o el segundo tratamiento reduce los
- 20 síntomas en mayor medida, de lo que se observaría si el segundo tratamiento se administrara en ausencia del primer tratamiento, o la situación análoga se observa con el primer tratamiento. En algunas modalidades, el suministro es tal que la reducción en un síntoma, u otro parámetro relacionado con el trastorno es mayor que

la que se observaría con un tratamiento suministrado en ausencia del otro. El efecto de los dos tratamientos puede ser parcialmente aditivo, totalmente aditivo, o más que aditivo. El suministro puede ser tal que un efecto del primer tratamiento suministrado aún puede detectarse cuando se suministra el segundo.

- 5 En una modalidad, otros agentes terapéuticos, tales como factores, pueden administrarse antes, después, o al mismo tiempo (simultáneamente con) como las células CAR-T, que incluyen, pero no se limitan a, interleucinas, así como los factores estimulantes de colonias, tales como G-, M- y GM-CSF e interferones. La célula que expresa CAR descrita en la presente descripción y al menos un
- 10 agente terapéutico adicional pueden administrarse simultáneamente, en la misma composición o en composiciones separadas, o secuencialmente. Para la administración secuencial, la célula que expresa CAR descrita en la presente descripción puede administrarse primero, y el agente adicional puede administrarse segundo, o el orden de administración puede invertirse.
- 15 En modalidades adicionales, las células que expresan CAR descritas en la presente descripción pueden usarse en un régimen de tratamiento en combinación con cirugía, radiación, quimioterapia, agentes inmunosupresores, anticuerpos u otros agentes inmunoablativos. En otra modalidad, la célula que expresa CAR descrita en la presente descripción puede usarse en combinación con un
- 20 tratamiento antiandrógeno. En una modalidad, puede administrarse al sujeto un agente que mejore la actividad de una célula que expresa CAR. Por ejemplo, en una modalidad, el agente puede ser un agente que inhibe una molécula inhibidora.

A continuación se presenta una descripción de modalidades ilustrativas.

1. Un receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende:
 - (a) un dominio extracelular que comprende un scFv que se une específicamente al antígeno de calicreína humana 2 (hK2),
 - 5 (b) un dominio transmembrana, y
 - (c) un dominio intracelular de señalización que comprende opcionalmente al menos un dominio coestimulador.

2. El CAR de la modalidad 1, que comprende además
 - 10 (d) una región bisagra CD8a;en donde el dominio transmembrana comprende un polipéptido de la región transmembrana CD8a (CD8a-TM). y
en donde el dominio intracelular de señalización comprende un dominio coestimulador que comprende un componente del miembro 9 (CD137) de la
15 superfamilia de receptores de TNF y un dominio de señalización primario que comprende un componente de la cadena zeta CD3 (CD3z) de glicoproteína de la superficie de células T.

3. El CAR de la modalidad 2, en donde
 - (b) la región bisagra CD8a comprende una secuencia de aminoácidos que
20 es al menos 90 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 25, 269, 270, 271, o 272;
 - (c) el dominio transmembrana comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 26; y/o

(d) el dominio intracelular de señalización comprende un dominio coestimulador que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 27, y un dominio de señalización primario que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la sec. con
5 núm. de ident.: 28.

4. Un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 64, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66;

15 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 314, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 315, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311;

20 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 309, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 310, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63,

5 una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 72,

10 una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 73, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 86,

15 una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 87, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 88;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 92,

20 una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 93, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 94

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 103, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 106, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

10 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 107, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 108, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

15 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 110, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 111, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la

20 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la

sec. con núm. de ident.: 112, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

5 105, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 114, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

10 115, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 116, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

15 118, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 119, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.:

20 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 123, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 124, y una CDR3 de cadena pesada que tiene la
5 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122;

en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

5. Un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende un dominio
10 extracelular de unión al antígeno, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una
15 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una
20 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 95, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 96, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 126, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una
5 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una
10 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una
15 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una
20 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139,

en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al antígeno de hK2.

6. El CAR de acuerdo con la modalidad 4, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende además:

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 95, una
5 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 96, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una
10 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una
15 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 90, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una
20 CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 128, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138; o

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con

núm. de ident.: 127, y una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 139.

7. El CAR de acuerdo con la modalidad 6, en donde el dominio extracelular
- 5 de unión al antígeno comprende:
- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 64, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec.
- 10 con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 15 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de
- 20 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 68, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 70, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de
- 15 cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 69, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;
- 20 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 63, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 65, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 66, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de

cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 67, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 126, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 71;

5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 314, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 315, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 311, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)

10 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 312, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 313, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91;

una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que

15 tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 103, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 104, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de

20 ident.: 128, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 129, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 130;

- una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 107, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 108, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 125, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 131, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 132;
- 10 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 102, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 112, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 113, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 133, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 134, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 135;
- 15 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 115, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 116, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 117, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 20

- de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 136, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 137, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138; o
- 5 una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 120, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 121, una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 122, una región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 10 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 97, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 127, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 138.
- 15 8. El CAR de acuerdo con la modalidad 6, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende: una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 86, una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 87, una
- 20 CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 88, y una región determinante de complementariedad 1 (CDR1) de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 89, una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de

la sec. con núm. de ident.: 90, una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 91.

9. Un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende un dominio
5 extracelular de unión al antígeno, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende una
secuencia de aminoácidos seleccionados de las sec. con núms. de ident.:
10 1, 2, 3, 74, 75, 147, 148, 149, 150, 151, 152 y 318; y/o

un dominio variable de cadena ligera (VH) que comprende una
secuencia de aminoácidos seleccionados de las sec. con núms. de ident.:
4, 5, 6, 76, 77, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146 y 317;

en donde el dominio extracelular de unión al antígeno se une al
15 antígeno de calicreína humana 2 (hK2).

10. El CAR de la modalidad 9, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena

pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5; o

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 74 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 76;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 77;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 147 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 141;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 148 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 142;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 149 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 143;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 150 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 144;

 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 151 y una región

variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 145;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 152 y una región

5 variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 146;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 318 y una región

10 variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 317.

11. El CAR de cualquiera de las modalidades 1-10, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende un fragmento variable de cadena simple (scFv).

15

12. El CAR de la modalidad 11, en donde la scFv comprende un polipéptido enlazador entre la región variable de cadena ligera (VL) y la región variable de cadena pesada (VH).

20 13. El CAR de la modalidad 12, en donde el polipéptido enlazador comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 7.

14. El CAR de cualquiera de las modalidades 11-12, en donde la scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 8-23, 169-184 y 340-343.
- 5 15. El CAR de cualquiera de las modalidades 1-14, en donde el dominio extracelular de unión al antígeno comprende un polipéptido señal.
16. El CAR de la modalidad 15, en donde el polipéptido señal comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 24.
- 10 17. El CAR de cualquiera de las modalidades 4-16, en donde el dominio intracelular de señalización comprende un componente polipeptídico seleccionado del grupo que consiste en un componente del miembro 9 (CD137) de la superfamilia de receptores de TNF, un componente de la cadena zeta CD3 (CD3z) de la glicoproteína de la superficie de las células T, un componente del 15 cúmulo de diferenciación (CD27), un componente del miembro de la superfamilia del cúmulo de diferenciación, y una combinación de estos.
18. El CAR de la modalidad 17, en donde el componente CD137 comprende 20 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27.

19. El CAR de la modalidad 17 o modalidad 18, en donde el componente CD3z comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28.
- 5 20. El CAR de una cualquiera de las modalidades 17-19, en donde el dominio intracelular de señalización comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 45.
- 10 21. El CAR de cualquiera de las modalidades 2-20, en donde el dominio transmembrana comprende un polipéptido de la región de transmembrana CD8a (CD8a-TM).
- 15 22. El CAR de la modalidad 21, en donde el polipéptido de CD8a-TM comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26.
23. El CAR de cualquiera de las modalidades 4-22, que comprende además una región bisagra que enlaza el dominio transmembrana al dominio extracelular de unión al antígeno.
- 20 24. El CAR de la modalidad 23, en donde la región bisagra es una región bisagra CD8a.

25. El CAR de la modalidad 24, en donde la región bisagra CD8a comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25, 279, 280, 281, o 282.
26. El CAR de cualquiera de las modalidades 1-25, en donde el dominio
5 extracelular de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 29-44, 78-81, 221-236, y 273-308.
27. El CAR de cualquiera de las modalidades 1-26, en donde el CAR
10 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 46-61, 82-85 y 205-220.
28. Un linfocito aislado que expresa el CAR de cualquiera de las reivindicaciones 1-27.
- 15
29. El linfocito aislado de la modalidad 28, en donde el linfocito es un linfocito T.
30. El linfocito aislado de la modalidad 28, en donde el linfocito es una célula destructora natural (NK).
- 20
31. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el CAR de cualquiera de las modalidades 1-30.

32. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de la modalidad 31.
33. Una célula que expresa la molécula de ácido nucleico de la modalidad 31.
- 5 34. Una composición farmacéutica, que comprende una cantidad eficaz del linfocito de cualquiera de las modalidades 28-30.
35. Una composición farmacéutica, que comprende una cantidad eficaz del linfocito de cualquiera de las modalidades 28-30 y un excipiente
- 10 farmacéuticamente aceptable.
36. El CAR de cualquiera de las modalidades 1-27 o la composición farmacéutica de la modalidad 34 o 35 para usarse en terapia.
- 15 37. El CAR de cualquiera de las modalidades 1-27 o la composición farmacéutica de la modalidad 34 o 35 para usarse en un método para tratar a un sujeto que tiene cáncer.
38. Un método para tratar un sujeto que tiene cáncer; el método comprende:
- 20 administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del linfocito de cualquiera de las modalidades 28-30 a un sujeto que lo necesita, mediante la cual el linfocito induce la destrucción de células cancerosas en el sujeto.

39. El método de la modalidad 38, o el CAR o la composición farmacéutica para usarse en un método de la modalidad 37, en donde el cáncer es cáncer de próstata o cáncer de mama que expresa receptor andrógeno.
- 5 40. El método de la modalidad 38, o el CAR o la composición farmacéutica para usarse en un método de la modalidad 37, en donde el cáncer es cáncer de próstata.
41. El método de la modalidad 38, o el CAR o la composición farmacéutica para usarse en un método de la modalidad 37, en donde el cáncer es cáncer de
10 mama que expresa el receptor andrógeno.
42. Un método de destrucción dirigida de una célula cancerosa, el método comprende:

poner en contacto la célula cancerosa con el linfocito de cualquiera de las
15 modalidades 28-30, mediante la cual

el linfocito induce la destrucción de la célula cancerosa.
43. El método de la modalidad 42, en donde la célula cancerosa es una célula de cáncer de próstata o una célula de cáncer de mama que expresa el receptor
20 andrógeno.
44. Un método para detectar la presencia de cáncer en un sujeto, que comprende:

(c) poner en contacto una muestra celular obtenida del sujeto con el CAR de una cualquiera de las modalidades 1-27, lo que forma, de esta manera, un complejo de células CAR, y

(d) detectar el complejo, en donde la detección del complejo es indicativa
5 de la presencia de cáncer en el sujeto.

Preferentemente, la modalidad se realiza *in vitro*.

45. El CAR de la modalidad 1, en donde el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD8a-TM que comprende una secuencia de
10 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26.

46. El CAR de la modalidad 2, en donde el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD8a-TM que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26.

15

47. El CAR de la modalidad 2 o 46, en donde la región bisagra CD8a comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25.

48. El CAR de la modalidad 2 o 47, en donde el componente CD137
20 comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27.

49. El CAR de la modalidad 2, 47 o 48, en donde el componente CD3z comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28.

50. El CAR de la modalidad 3, en donde:
- (b) la región bisagra CD8a comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 25, 269, 270, 271, o 272, preferentemente en donde la región
- 5 bisagra CD8a comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 25;
- (c) el dominio transmembrana comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 26; y/o
- 10 (d) el dominio intracelular de señalización comprende un dominio coestimulador que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 27, y un dominio de señalización primaria que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 28.
- 15
51. El CAR de la modalidad 3, en donde la región bisagra CD8a comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25.
52. El CAR de la modalidad 3, en donde el polipéptido CD8a-TM comprende
- 20 una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26.
53. El CAR de la modalidad 3, en donde el componente CD137 comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27.

54. El CAR de la modalidad 3, en donde el componente CD3z comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28.
55. El CAR de la modalidad 3, en donde:
- 5 (b) la región de bisagra CD8a comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 25;
- (c) el dominio transmembrana comprende la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 26; y
- (d) el dominio intracelular de señalización comprende un dominio
- 10 coestimulador que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 27, y un dominio de señalización primaria que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 28.
56. El CAR de las modalidades 45-55, en donde el dominio extracelular de
- 15 unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 29-44, 78-81, 221-236, y 273-308.
57. El CAR de cualquiera de las modalidades 45-55, en donde el CAR
- 20 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 46-61, 82-85 y 205-220.

58. Un linfocito aislado que expresa el CAR de cualquiera de las reivindicaciones 45-55.
59. El linfocito aislado de la modalidad 58, en donde el linfocito es un linfocito T.
- 5
60. El linfocito aislado de la modalidad 58, en donde el linfocito es una célula destructora natural (NK).
61. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el CAR de cualquiera
- 10 de las modalidades 45-55.
62. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de la modalidad 61.
63. Una célula que expresa la molécula de ácido nucleico de la modalidad 61.
- 15
64. Una composición farmacéutica, que comprende una cantidad eficaz del linfocito de cualquiera de las modalidades 58-60.
65. Una composición farmacéutica, que comprende una cantidad eficaz del
- 20 linfocito de cualquiera de las modalidades 58-60 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

66. El CAR de cualquiera de las modalidades 45-55 o la composición farmacéutica de la modalidad 64 o 65 para usarse en terapia.
67. El CAR de cualquiera de las modalidades 45-55 o la composición farmacéutica de la modalidad 64 o 65 para usarse en un método para tratar a un sujeto que tiene cáncer.
68. Un método para tratar un sujeto que tiene cáncer; el método comprende: administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del linfocito de cualquiera de las modalidades 58-60 a un sujeto que lo necesita, mediante la cual el linfocito induce la destrucción de células cancerosas en el sujeto.
69. El método de la modalidad 68, o el CAR o la composición farmacéutica para usarse en un método de la modalidad 67, en donde el cáncer es cáncer de próstata o cáncer de mama que expresa el receptor andrógeno.
70. El método de la modalidad 68, o el CAR o la composición farmacéutica para usarse en un método de la modalidad 67, en donde el cáncer es cáncer de próstata.
71. El método de la modalidad 68, o el CAR o la composición farmacéutica para usarse en un método de la modalidad 67, en donde el cáncer es cáncer de mama que expresa el receptor andrógeno.

72. Un método de destrucción dirigida de una célula cancerosa, el método comprende:

poner en contacto la célula cancerosa con el linfocito de cualquiera de las modalidades 58-60, mediante la cual el linfocito induce la destrucción de la célula cancerosa.

73. El método de la modalidad 72, en donde la célula cancerosa es una célula de cáncer de próstata o una célula de cáncer de mama que expresa el receptor androgénico.

74. Un método para detectar la presencia de cáncer en un sujeto, que comprende:

(a) poner en contacto una muestra celular obtenida del sujeto con el CAR de una cualquiera de las modalidades 45-55, lo que forma, de esta manera, un complejo de células CAR, y

(b) detectar el complejo, en donde la detección del complejo es indicación de la presencia de cáncer en el sujeto.

Preferentemente, la modalidad se realiza *in vitro*.

EJEMPLOS

Se proporcionan los siguientes ejemplos para describir mejor algunas de las modalidades descritas en la presente descripción. Se pretende que los ejemplos ilustren, y no limiten, las modalidades descritas.

Ejemplo 1: Construcción y expresión de los CAR de la scFv de hK2 con scFv de 11B6

Los constructos de CAR de hK2 que comprenden un scFv derivado del anticuerpo

5 dirigido a la hK2 de 11B6 se construyeron como se ilustra en la **Figura 1A**. La

células T estimuladas de CD3/CD28 del Dynabeads Human T-Expander se

sometieron a electroporación, después se lavaron tres veces con OPTI-MEM

(Invitrogen) y se resuspendieron en OPTI-MEM en la concentración final de

50E6/ml. Posteriormente, 0,1 ml de las células (5E6) se mezcló con 10 ug de IVT

10 CAR que codifica el ARN y se electroporó en una cubeta de 2-mm de Gap (Harvard

Apparatus BTX, Holliston, MA, EE. UU.) usando un BTX ECM830 (Harvard

Apparatus BTX, Holliston, MA, EE. UU.) al presionar el botón “Pulsar” una vez.

(Configuraciones: 500 voltios, longitud de pulso de 750 μ s y pulso único (1),

intervalo de 100 ms) Después de la electroporación, las células T se transfirieron a

15 una placa de 6 pocillos e inmediatamente se pusieron de nuevo en una incubadora

a 37 °C. Las células T humanas primarias se electroporaron sin ARNm

(SIMULADO) o 10 μ g de ARNm que expresa ya sea un CAR de scFv de hK2 o

CAR de control irrelevante. 24 horas después de la electroporación, la expresión de

la superficie de CAR se midió mediante citometría de flujo después de la tinción con

20 2 μ g/ml de proteína L biotinilada y PE conjugada con estreptavidina (**Figura 1B**) o

hK2 biotinilada (1 μ g/ml) y PE conjugada con estreptavidina (**Figura 1C**).

Veinticuatro horas después de la electroporación, se contaron las células T. Las

células T 1E5 se recolectaron para cada una. Las células se lavaron con un

regulador FACS dos veces usando 200 µl/pocillo de regulador FACS para placas de microtitulación, con el sobrenadante desechado. Todos los pocillos se tiñeron con un regulador de tinción de 100 µl que contenía la proteína L (Genscript, cat. núm. M000971:500; 2 ug/ml), se incubaron durante al menos 30 minutos a 4 °C

5 mientras que se protegían de la luz. Las células se lavaron al añadir un regulador FACS dos veces usando 150 µl/pocillo para placas de microtitulación con regulador FACS. La centrifugación en 400 x g se realizó durante 4 minutos a temperatura ambiente. Después, se desechó el sobrenadante. Todos los pocillos se tiñeron con 100 µl de estreptavidina-R-ficoeritrina (SA-PE; 1:250) y un tinte

10 de tinción de células muertas casi IR fijable Live/dead (1:1000), se incubaron durante al menos 30 minutos a 4 °C mientras que se protegían de la luz. Después, las células estaban listas para el análisis de citometría de flujo.

Como se muestra en la **Figura 1B**, se observó la tinción de proteínas L en ambos CAR HL y LH de HK2 (41,4 % y 66,3 %, respectivamente), mientras que solo se vio

15 la tinción de fondo (~ 5,5 %) en las células T de control que fueron células T sin electroporación de ARNm. Como se muestra en la **Figura 1C**, la expresión de CAR en células T humanas primarias también pudo detectarse a través de la proteína de Hk2 recombinante etiquetada con biotina interna J&J (proteína de Hk2 de biotina, lote:20180810, CBIS ID:KL2W12.CB.003, 2,4 mg/ml, 1 mM de benzamidina) seguida

20 de SA-PE. Como se muestra, las células T pueden expresar eficazmente el CAR LH de HK2 (82,7 %) según se mide mediante citometría de flujo, mientras que solo la tinción de fondo (~ 1,73 % o 1,19 %) en las células T de control que fueron células T sin electroporación de ARNm o CAR de control no divulgado (HK2 no específica).

Los resultados se muestran para las células T donantes representativas y fueron reproducibles en múltiples donantes (al menos $n = 3$). Etiqueta de +biotina (sulfo-NHS-LC-biotina EZ-Link™, catálogo científico de Thermo Fisher núm. 21327)

5 **Ejemplo 2: Destrucción de células tumorales mediante células CAR-T de hK2**

El cocultivo de CellTrace Violet (CTV, catálogo científico de Thermo Fisher número: C34557) basado en el ensayo de citotoxicidad usando el citómetro de flujo se realizó de la siguiente manera.

- 10 Las células T se prepararon de la siguiente manera. Veinticuatro horas después del EP, las células T se contaron y resuspendieron en la concentración necesaria para la E:T más concentrada/deseada. Las células T se añadieron a 100 μ l/pocillo de ensayo (2×10^6 de células/ml; se sembraron 100 μ l en una relación 10:1 E:T, es decir, las células T 2×10^5 por células diana 2×10^4). Se elaboró una materia prima de
- 15 la concentración 10:1 E:T con diluciones en serie dobles con medios de células T completos (optimizador con CTS, 5 % de suero humano, 1 % de GlutaMax) a 0,3125:1. Las células T se sembraron (100 μ l/pocillo) por triplicado usando una placa tratada de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos.

Las células diana etiquetadas de CTV se prepararon de la siguiente manera.

- 20 20 μ l de DMSO se añadió a un vial de solución de tinción de CTV. Esta solución de materia prima se diluyó en 20 ml de PBS (calentado hasta 37 °C) para una solución de tinción de 5 μ M. Las células tumorales 10×10^6 se recolectaron, se lavaron con PBS dos veces y se resuspendieron en 4×10^6 /ml (2,5 ml). Se añadió

un volumen igual (2,5 ml) de solución de tinción de CTV. Las células se incubaron durante 20 minutos en una incubadora a 37 °C. 40 ml de PRMI + 20 % de FBS se añadió a las células para absorber cualquier tinte sin fijar. Las células se incubaron durante 5 minutos. Las células se centrifugaron durante 5 minutos en 400 x g. El gránulo celular se resuspendió en el medio RPMI + 10 % de FBS precalentado. Mientras tanto, las células T se sembraron en la relación E/T deseada descrita anteriormente. Las líneas de células tumorales Vcap (HK2+) y DU145 (HK2-) se recontaron y, después, las células se resuspendieron en 2E5/ml y 100 µl por duplicado. Las células se coincubaron con las líneas de células tumorales etiquetadas en una placa de 96 pocillos de fondo plano. Se realizó un ensayo de citotoxicidad de la siguiente manera usando un citómetro de flujo. Después de 20 horas de cocultivo, todas las células se transfirieron a una placa de 96 pocillos de fondo en U y se lavaron. Después de 20 horas de cocultivo todas las células se recolectaron de una placa de 96 pocillos de fondo plano y se transfirieron a una placa de 96 pocillos de fondo en U y, después, se lavaron. 30 µl de 0,25 % de tripsina se añadió a todos los pocillos y se incubó durante 5 minutos en una incubadora de 37 °C. Después de 5 minutos, todas las células tumorales se recolectaron a una placa de 96 pocillos de fondo en U. Las células se centrifugaron y lavaron durante 5 minutos en 400 x g dos veces. El gránulo celular, después, se resuspendió en un tinte de tinción casi IR fijable LIVE/DEAD™ (1:1000) diluido (100 µl). Las células se incubaron durante 30 min a 4 °C, y se lavaron con un regulador FACS dos veces al centrifugar las células durante 5 minutos en 400 x g. Después del lavado, todas las células se fijaron

durante 10 minutos usando 100 µl de regulador de fijación BD Cytotfix™ (50 µl de regulador FACS + 50 µl de regulador de fijación). Las células se centrifugaron y se lavaron durante 5 minutos en 400 x g una vez. El gránulo celular se resuspendió en el regulador FACS. Las muestras teñidas se analizaron mediante

5 citometría de flujo multicolor después del final del período de incubación.

El porcentaje de actividad citotóxica se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \text{\% de muerte específica} = & \text{\% de células casi IR+CTV+(muertas)} - \text{\% de células} \\ & \text{espontáneas casi IR+CTV+} / (100 \% - \text{\% de células espontáneas casi} \\ 10 & \text{IR+CTV+(muertas)}) \times 100 \%. \end{aligned}$$

Veinticuatro horas después de la transfección transitoria, las células diana (Vcap y DU145) se etiquetaron con tinte fluorescente Cell Trace Violet (CTV) y, después, se cocultivaron con células CAR-T de hK2. Las células T simuladas

15 sirvieron como controles efectores negativos. Las células se cocultivaron durante 20 horas en la relación célula efectora a diana (E/T) indicada que se muestra en la **Figura 2**. El porcentaje de destrucción es la relación del número absoluto de células (positivas CTV) diana (negativas de tinte de viabilidad) vivas que permanecen en el cocultivo en relación con el número de objetivos vivos

20 cultivados sin células CAR-T. Como se muestra, las células CAR-T LH de hK2 específicamente y eficazmente lisaron las células VCap de líneas de células cancerosas prostáticas humanas de hK2(+), pero no las relaciones E/T de

células DU145 de K2 (-) de 10:1 a 0,3125:1, mientras que solo la citotoxicidad de fondo se vio en las células T que fueron CAR simuladas o HL de hK2.

Las células CAR-T específicas de hK2 también se evaluaron por citotoxicidad en tiempo real usando xCELLigence como un sistema de análisis celular en tiempo
5 real como un ensayo de potencia para citólisis mediada por células inmunes de células diana.

50 µl de medios de cultivo de células cancerosas diana se añadió a cada pocillo de las placas E de 96 pocillos (ACEA Biosciences), y la impedancia de fondo se midió y se mostró como un índice de célula. Después, las células diana adherentes VCap
10 y DU145 se disociaron y se sembraron a una densidad de células 5E4 (VCap), 5E3 (DU145)/pocillo de la placa E en un volumen de 100 µl, y se permitieron adherirse pasivamente en la superficie de electrodos. Después de la siembra, la placa E se mantuvo a temperatura ambiente dentro de una campana de flujo laminar durante 30 minutos y, después, se transfirió al instrumento RTCA MP dentro de una
15 incubadora de cultivo celular. La grabación de datos se inició inmediatamente en intervalos de 15 minutos durante toda la duración (96 horas) del experimento.

En el momento, se aplicó el tratamiento (24 horas después de la siembra de células cancerosas), se pausó la adquisición de datos, se extrajeron 50 µl de medios de cada pocillo y se añadieron células CART efectoras en diferentes

20 relaciones de efectoras a dianas (E:T) en un volumen de 50 µl. Las células CAR+ de HK2 y CAR T (de HK2 no específica) de control no divulgadas se resuspendieron. Las diluciones dobles se realizaron, después, por duplicado en una placa de 96 pocillos (una relación E/T de 5:1 a 0,156:1). Los controles de

efectoras diana más simulados (ninguna célula T de electroporación de ARN) también se añadieron a las células diana.

Las células diana VCap (5E4) y DU145 (5E3) se incubaron con simulación, 10 µg de ARNm electroporaron (24 horas después de la transfección) las células

- 5 CAR LH de 11B6 de hK2 o CAR-T de control en diferentes relaciones E/T durante aproximadamente 72 horas. Los lotes del índice de células (CI) normalizado para VCap y DU145 se muestran en la **Figura 3A** y **Figura 3B**, respectivamente. Cuando se siembran solas, las células diana se adhieren a la placa y proliferan, lo que aumenta la lectura del IC. Cuando las células T se
- 10 añadieron a las células diana, las células CAR- de hK2 y CAR-T de control causaron la citólisis de células y la disminución progresiva posterior en el IC.

Ejemplo 3: Producción de citocinas de células CAR-T de hK2

- 15 Sin intención de limitarse a la teoría, el IFN-γ producido por células T citotóxicas podría permitir ejercer la vigilancia inmunitaria de los tumores, lo cual puede inhibir directamente la proliferación e inducir la apoptosis de algunas malignidades *in vivo* e *in vitro*. Para determinar si las células T humanas modificadas por CAR de hK2 podrían reconocerse y activarse mediante células tumorales de hK2 (+), el
- 20 sobrenadante se recolectó del ensayo de destrucción basado en xCELLigence, como se describe en el Ejemplo 2 y las **Figuras 3A-3B**. Después de aproximadamente 70 horas de cocultivo, el sobrenadante se recolectó y se

analizó mediante ELISA de acuerdo con las direcciones proporcionadas con el kit de ELISA (Human IFN- γ ELISA MAX™ Deluxe, BioLegend, cat. núm. 430106). La producción de interferón- γ (IFN- γ) de citocinas Th1 de células CAR-T estimuladas con antígeno se muestra en la **Figura 4**. Las células T modificadas con CAR de control y CAR LH- de hK2 secretan el IFN- γ durante el cocultivo con células VCap que expresan la hK2 de una manera dependiente de una relación E:T, pero no las células DU145 de hK2 negativa. El CAR de control no descrito secretó una cantidad mucho mayor de IFN- γ debido al nivel de expresión de antígeno mucho mayor que hK2. Se muestra la concentración media de IFN- γ $\pm$ SD (pg/ml) de cultivos duplicados.

Ejemplo 4: Generación y caracterización de constructos de CAR de scFv estabilizados térmicamente

El clon 11B6 del anticuerpo anti-hK2 se identificó mediante la inmunización de ratones BALB/c con -hK2 recombinante por Väisänen et al (Clinical Chemistry 50:9, 1607–1617 (2004). La humanización del clon derivado de murino 11B6 se realizó mediante el método descrito en Singh et al., MAbs. 2015;7(4):778-91. Dado que el exodominio de tipo silvestre 11B6 como la scFv no retuvo la unión a temperatura elevada (55 °C), se realizó la humanización como scFv y los sobrenadantes expresados en *E. coli* de las variantes humanizadas se incubaron a 60 °C durante 15 minutos, seguido del análisis para la unión al HK2 recombinante usando ELISA.

Se generaron diez CAR dirigidos a la hK2 que contienen un scFv estabilizado térmicamente derivado del anticuerpo 11B6.

La descripción y las sec. con núms. de ident. de los diez constructos de CAR que contienen scFv estabilizados térmicamente se proporcionan en la Tabla 1.

5 **Tabla 1. Constructos de CAR con scFv estabilizados térmicamente con 11B6**

Núm. de constructo	Descripción	Sec. con núm. de ident.
1	HL_HCG5_LCD6_20AA	46
2	HL_HCG5_LCHumanized_20AA	47
3	HL_HCF3_LCB7_20AA	48
4	HL_HCG5_LCB7_20AA	49
5	LH_LCD6_HCG5_20AA	50
6	LH_LCHumanized_HCF3_20AA	51
7	LH_LCHumanized_HCG5_20AA	52
8	LH_LCB7_HCF3_20AA	53
9	LH_LCB7_HCG5_20AA	54
10	LH_LCD6_HCF3_20AA	55

Para identificar diferentes CAR basados en scFv con activación independiente del antígeno a través de células Jurkat-Lucia™ NFAT (JNL). El factor nuclear de células T activadas (NFAT, por sus siglas en inglés) es una familia de factores de transcripción primero identificado como un regulador de células inmunitarias. La activación de células T conduce a la afluencia de calcio, activando la calcineurina que desfosforila la señal de localización nuclear rica en serina en el terminal N de NFAT, lo que conduce a la importación nuclear de NFAT. Sin intención de limitarse a la teoría, la señalización tónica debida a la concentración de scFv podría detectarse posteriormente mediante la luciferasa Firefly impulsada por el promotor de NFAT en la línea celular indicadora de JNL.

Las células JNL, es decir, células Jurkat que contienen el gen de luciferasa impulsado por el promotor de NFAT sensible a la señalización, se transdujeron con los diversos constructos de CAR. La unión entre el constructo de CAR y su antígeno celular cognado (hK2 en células diana) conduce a la expresión de la
5 luciferasa en las células JNL.

La transducción lentiviral se realizó de la siguiente manera. Las células JNL se cosecharon y resuspendieron a 1×10^6 /ml. 500 μ l de células JNL y virus lentiviral se añadieron a una MOI de 3, y se mezclaron al pipetear hacia arriba y abajo. La mezcla se incubó en una incubadora a 37 °C durante 24 horas. 500 μ l de medios
10 de JNL se añadió a cada pocillo, con un cultivo continuo en una incubadora a 37 °C. Las células se transfirieron a un frasco T25 en el día 4. En los días 5-6, se realizó la validación de la transducción. 150 μ l de células se cosecharon para examinar la expresión de CAR a través del reactivo de detección adecuado para el CAR específico que está usando (p. ej., la proteína de hk2 de biotina se usa para
15 detectar el CAR de hk2). Las células JNL se mantuvieron a 5×10^5 /ml hasta que se obtuvieron suficientes células ya sea para congelarse o usarse en el ensayo.

Los CAR de scFv estabilizados térmicamente se evaluaron en un ensayo reportero de JNL para la actividad dependiente del antígeno. Las células Jurkat que contienen el gen de luciferasa impulsado por el promotor de NFAT sensible a la señalización
20 (denominadas células JNL) se transdujeron con los diversos constructos de CAR de hK2. El ensayo se realizó de la siguiente manera. El cocultivo con líneas de células diana se realizó en una relación efectora a diana de 2:1. Las células JNL se centrifugaron para eliminar cualquier luciferasa secretada en el medio; las células

JNL se resuspendieron, después, en medios frescos a 4×10^5 /ml. Las células se cosecharon. Después, ambas líneas de células diana de antígeno positivo y antígeno negativo se prepararon a 2×10^5 /ml. 100 μ l de JNL se añadió a 100 μ l de células diana. Para el control de JNL solas, se añadió 100 μ l de medios en lugar de células diana.

5 Para el control positivo, las células JNL solas o células JNL de CAR se añadieron a un cóctel de estimulación celular 1x y se incubaron en una incubadora a 37 °C durante 24 horas. 150 μ l del sobrenadante se recolectó en un placa de 96 pocillos y se centrifugaron para eliminar las células. 100 μ l de sobrenadante se transfirió a partir de la placa a una placa negra de fondo sólido. Después, se añadió 100 μ l de

10 reactivo de detección lucia QUANTI-luc. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos antes de la lectura con el lector de multiplaca Envision. La expresión de CAR se determinó mediante hK2 biotinilada seguida de PE conjugada con estreptavidina, con los resultados que se muestran en la **Figura 5A**. La expresión de CAR en células JNL transducidas se confirmó para todos los

15 clones seleccionados con 60-75 % de células que muestran la expresión detectable a través de los diferentes clones y CAR de 11B6 originales. Las células JNL que contienen los clones de CAR indicados y las células JNL no transducidas (UTD) se cocultivaron con líneas de células diana (células VCap o DU145) y la actividad de la luciferasa se midió como intensidad de luminiscencia. Los clones

20 se consideraron activos cuando la intensidad de luminiscencia excedía 1,5 veces el nivel de células UTD en presencia de células que expresan antígenos. La unión entre el constructo de CAR y su antígeno celular cognado (hK2 en células diana) conduce a la expresión de la luciferasa en las células JNL (**Figura 5B**). Las

células JNL que contienen los clones de CAR indicados y las células JNL (no transducidas, de aquí en adelante “UTD”) se cocultivaron con líneas de células diana (células VCap o DU145) y la actividad de la luciferasa se midió como intensidad de luminiscencia. Los clones se consideraron activos cuando la

5 intensidad de luminiscencia excedía 1,5 veces el nivel de células UTD en presencia de células que expresan antígenos. No se descubrió activación dependiente del antígeno para todos los 10 clones y CAR HL y LH de 11B6 originales.

Ejemplo 5: Expresión de CAR de scFv estabilizados térmicamente en células T

10

Para evaluar la función de las células CAR-T estabilizadas térmicamente con 11B6 y recoger el constructo candidato superior, se generaron las células CAR-T basadas en scFv originales y estabilizadas térmicamente con 11B6 usando la transducción lentiviral. Las células T humanas primarias se transdujeron con

15 lentivirus de CAR basado en scFv originales y estabilizado térmicamente con 11B6 con una multiplicidad de infección (MOI) de 3. La expresión de CAR se determinó mediante hK2 biotinilada (1 µg/ml) seguida de PE conjugada con estreptavidina 14 días después de la transducción.

El protocolo experimental es de la siguiente manera.

20

Se realizó el empaquetado lentiviral. Las células 14E6 Lenti-X™ 293T se sembraron por placa de cultivo recubierto de colágeno I de Corning™ BioCoat™ de fondo redondo de 150 mm², y se incubaron a 37 °C durante la noche usando el medio DMEM + 10 % de FBS.

Con las células 293T Lenti-X™ en la confluencia ideal de 80- 85 %, se preparó lo siguiente. Los medios de cultivo se reemplazaron con 21 ml de medios de crecimiento 293T. La lipofectamina 2000 se diluyó a temperatura ambiente y equilibró OptiMEM. La lipofectamina 2000 diluida se añadió a plásmidos mezclados gota a gota, y también se mezcló. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 25 minutos. La mezcla de transfección se añadió a las células Lenti-X 293T gota a gota, con la placa suavemente girada para mezclar. La mezcla se incubó en una incubadora a 37 °C. El lentivirus se cosechó 24 y 48 horas después de la transfección. Los reactivos anteriores se resumen en la Tabla 2.

10

Tabla 2

Reactivo	Cantidad por plato de 15 cm
pMDLg/p	18 µg
pRSV.Rev	18 µg
pMD2.G	7 µg
Plásmido de transferencia (CAR)	15 µg
OptiMEM	1500 µl

La concentración lentiviral se realizó de la siguiente manera. Los sobrenadantes que contienen lentivirus se cosecharon y se centrifugaron en 500 x g durante 10 minutos si células 293T excesivas están flotando alrededor antes de filtrarse a través de 0,45 µm de filtros de acetato de celulosa. El sobrenadante se transfirió a un recipiente estéril, se combinó con 1/3 de volumen del concentrador Lenti-X (Clontech, cat. núm. 631232), y se mezcló por inversión suave. La mezcla se incubó a 4 °C durante la noche. La muestra se centrifugó a 1500 x g durante 45

15

minutos a 4 °C, con un gránulo blanco visible después de la centrifugación. El sobrenadante se extrajo cuidadosamente sin alterar el gránulo. Los sobrenadantes residuales se eliminan con una pipeta después de una breve centrifugación a 1500 x g. El gránulo se resuspendió suavemente en 1/10 del volumen original usando el crecimiento de células T en frío. El virus se distribuyó en alícuotas en 200 µl e inmediatamente se almacenaron a –80 °C.

La titulación viral se realizó de la siguiente manera. La fase logarítmica SupT1 se cultivó en RPMI completa. 100 µl de 20.000 células SupT1/ml se sembraron por pocillo en una placa plana de 96 pocillos. La titulación de virus se realizó, después, en placas de fondo redondo de 96 pocillos). 100 µl de medios se añadió a todos los pocillos en la placa. Una alícuota de virus se descongeló del congelador a -80 °C con las manos. La alícuota se pipeteó arriba y abajo para mezclarse bien, con 50 µl de virus añadido al primer pocillo, seguido de mezclado profundo. Una dilución en serie 1:3 se realizó al pipetear 50 µl de virus al siguiente pocillo. Después, 50 µl de medios se añadió a Ab primario solamente, Ab secundario solamente y controles no transducidas. 50 µl de cada uno se transfieren a partir de la placa de titulación a 100 µl de células SupT1 en la placa de ensayo con una pipeta multicanal, y se incubaron a 37 °C durante la noche. 100 µl de medios precalentados se añadió a cada muestra y se incubó otros dos días. La eficacia de transducción se determinó mediante citometría de flujo. Las muestras se transfirieron a una placa de 96 pocillos de fondo redondo y se centrifugaron a 1400 RPM durante 3 minutos. El sobrenadante se desechó rápidamente, seguido de transferencia (por adsorción) para eliminar los medios excesivos en la campana. El lavado se repitió con 150 µl de

regulador FACS. Después, se realizó un protocolo de tinción adecuado para los constructos de CAR. Las muestras se resuspendieron en 150 µl de regulador FACS antes del análisis de citometría de flujo

- 5 Cálculo del título viral: $\text{Título} = (\% \text{ de CAR positivo}/100) \times 2 \times 10^4 \times 20 \times \text{factor de dilución}$

Para excluir las integraciones de múltiples copias, se usan títulos con la transducción más cercana a 20 %.

- 10 La activación, transducción y expansión de células T se realizaron de la siguiente manera. Un vial de células T vírgenes se descongeló en un baño de agua y se añadió gota a gota a un tubo cónico de 15 ml que contiene 9 ml de medios de células T precalentados (SFM de expansión de células T del TCM CTS OpTmizer + 5 % de suero humano + 100 UI de IL-2/ml). El criovial se lavó
- 15 con 1 ml de medios para recuperar el número máximo y se centrifugó a 300 x g durante 8 minutos a temperatura ambiente. El gránulo se resuspendió en 10 ml de TCM fresco, se contó y se resuspendió a células 1E6 por milímetro. Las células 5E5 se añadieron por pocillo en una placa de 24 pocillos. Las
- microesferas CD3/CD28 de $1,5 \times 10^6$ se añadieron por pocillo en un volumen de
- 20 500 µl de tal manera que el volumen total fue de 1 ml por pocillo. Veinticuatro horas después de la activación, el virus se descongeló a temperatura ambiente. El virus se añadió en una multiplicidad de infección (MOI) de 3, se agitó suavemente para mezclarse y se retornó a la placa en la incubadora. (El título

funcional lentiviral se determinó anteriormente con el ensayo de título SupT1. Un pocillo se reservó por no transducido (UTD) en el cual no se añade un virus. Veinticuatro horas después de la transducción, 1 ml de TCM se añadió a cada pocillo. La penicilina-estreptomicina se añadió desde este punto en adelante (día 5 2). En los días 3-5, 4 ml de TCM se añadió por cada 2 ml de células y se transfirió a un frasco tratado de cultivo de tejido T25. Los frascos se colocaron horizontalmente en la incubadora (día 3). Un volumen igual de TCM se añadió para el cultivo de células T (día 4). En los días 5-14, las células se verificaron cada dos días, con la viabilidad, tamaño y conteo celular registrados. La densidad celular se ajustó a un 10 millón de células por ml. El tiempo ideal de cosecha depende de los donantes y se determina mediante el tamaño celular y la vez de expansión. Las células se congelaron generalmente cuando el tamaño celular era menor que 8 μ m basado en el contador celular de flujo MOXI con 100 a 200 veces de expansión.

La eficacia de transducción lentiviral se verificó en el día de cosecha de la 15 siguiente manera. Los cultivos se mezclaron bien. 100 μ l de células T se cosecharon a un pocillo correspondiente en la placa de 96 pocillos con 100 μ l de regulador FACS, se mezclaron y se centrifugaron a 1300 RPM durante 3 minutos a temperatura ambiente. Las células se resuspendieron en 200 μ l de regulador FACS y la centrifugación se repitió a 4 °C.

20 Las células se resuspendieron en 100 μ l de hK2 etiquetada con biotina (1 μ g/ml diluido en el regulador FACS) y se incubaron en hielo durante 30 minutos. Se añadió 100 μ l de regulador FACS y se lavó con centrifugado a 4 °C. El lavado con centrifugado se repitió después de añadir otros 200 μ l de regulador FACS. La

tinción con 100 µl de solución maestra que contiene el anticuerpo secundario SA-PE (1:250), tinción fijable live/dead (1:500), anticuerpos αCD3, αCD4 y αCD8 se realizó en hielo durante 30 minutos. 100 µl de regulador FACS se añadió y se lavó con centrifugado a 4 °C, se desechó y se resuspendió en 200 µl de regulador

5 FACS antes del lavado con centrifugado a 4 °C. Las muestras se resuspendieron en 100 µl de regulador FACS antes del análisis mediante citometría de flujo

La cosecha y congelación de células se realizan de la siguiente manera. Se determinó el conteo celular final. El cultivo se cosechó y se centrifugó a 300 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente. El cultivo se resuspendió en un

10 volumen más pequeño de medios para ajustarse en un tubo cónico de 50 ml. Los tubos se colocaron en imanes a 4 °C durante 10 minutos para “eliminar las microesferas”. Las células se transfirieron suavemente desde el tubo para minimizar la alteración de las microesferas/imán, y el volumen exacto registrados. El conteo se repitió. La centrifugación se realizó a 300 x g durante 10 minutos,

15 con el sobrenadante desechado. Las células se congelaron en medios de criopreservación de células CS-10 CryoStor® en un recipiente de enfriamiento. Los recipientes se transfirieron inmediatamente a -80 °C durante 24-48 horas antes del almacenamiento permanente en nitrógeno líquido. Los resultados se muestran en la **Figura 6** y confirman la expresión de CAR de hK2 en la superficie

20 de células T transducidas. Se proporciona el resumen del porcentaje de células CAR+ T de hK2 (% positivo) detectadas por cada uno de los 10 clones estabilizados térmicamente y HL y LH originales analizados con 11B6. Como se muestra, los diferentes clones tienen diferente nivel de expresión de CAR; varía

de 17,9 % a 42,7 %. Todas las células CAR+ T se normalizaron con las células CAR+ T iguales para ensayos funcionales posteriores.

Ejemplo 6: Destrucción de células tumorales mediante células CAR-T de scFv

5 estabilizadas térmicamente con 11B6

Las células CAR-T de scFv estabilizadas térmicamente con 11B6 que se evaluaron en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real para la citotoxicidad dependiente del antígeno. Las células CAR-T de hK2 y CAR-T originales

10 estabilizadas térmicamente con 11B6 se coincubaron con células VCaP (**Figura 7A**) y células PC3 (**Figura 7B**) durante 88 horas. La relación efectora a diana (E/T) se calculó basada en los datos de expresión de CAR (ver **Figura 6**). Las células diana expresaron establemente un tinte nuclear rojo que se midió mediante el sistema de imagenología IncuCyte de una manera en tiempo real. Inhibición del

15 crecimiento de células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables - número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%)

Las células CAR-T de scFv también se evaluaron en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real para la citotoxicidad dependiente del antígeno. Las células CAR-T de hK2 y las células CAR-T originales estabilizadas térmicamente con 11B6

20 se incubaron con células VCaP (**Figura 7C**) o células PC3 (**Figura 7D**) durante 88 horas en una relación efectora:diana de 1:1 o 0,5:1 que se calculó basada en los datos de expresión de CAR. Las células CAR-T transducidas con CAR17, CAR18, CAR19 y CAR20 se coincubaron con células VCaP de hK2 positiva y células

DU145 de hK2 positiva durante 96 horas en una relación efectora a diana (ET) de 1:1 o 0,5:1 que se calculó basada en la expresión de CAR en células T. El porcentaje de inhibición del crecimiento de células tumorales con el tiempo de células CAR-T transducidas con CAR17, CAR18, CAR19 y CAR20 se muestra en la **Figura 7E** para células VCap y en la **Figura 7F** para células DU145. Las células diana expresaron establemente un tinte nuclear rojo que se midió mediante el sistema de imagenología IncuCyte de una manera en tiempo real. Inhibición del crecimiento de células tumorales (%) = $(\text{número inicial de células diana viables} - \text{número actual de células diana viables}) / \text{número inicial de células viables} * 100$ (%)

Las células CAR-T evaluadas lograron aproximadamente 100 % de TGI mientras que el control no transducido no demostró ningún TGI. No se observó TGI con las células CAR-T evaluadas en células DU145 de hK2 negativa.

Ejemplo 7: Producción de citocinas de células CAR-T de scFv estabilizadas térmicamente con 11B6

El sobrenadante se recolectó del cocultivo de la noche (aproximadamente 20 horas) de células CAR-T de hK2 con células VCap en una relación 1:1 de E/T y se analizó usando el kit de células T de alta sensibilidad humana 13-plex Milliplex (HSTCMAG28SPMX13). Las células T modificadas con el CAR de hK2 secretan citocinas durante el cocultivo con células VCap que expresan hK2, pero en un nivel mínimo para las células T no transducidas (UTD). Los resultados de la liberación de citocinas por las células lenti-CAR-T de hK2 se muestran en la **Figura 8**.

El sobrenadante se recolectó del cocultivo de la noche (aproximadamente 20 horas) de células CAR-T de hK2 con células VCap, DU145 (células 5E4) en una relación 1:1 de E/T. Las células T modificadas con el CAR de hK2 secretan IFN- γ durante el cocultivo con células VCap que expresan hK2, pero no células DU145 de hK2 positiva. Las microesferas CD3/28 estimularon las células T y las células T solo se usaron como controles positivos y negativos, respectivamente. La liberación del IFN- γ mediante las células lenti-CAR-T de hK2 se muestra en la **Figura 9**. (Se usó el protocolo del Ejemplo 3) Se muestra la concentración media de IFN- $\gamma \pm$ SD (pg/ml) de cultivos duplicados. Las microesferas CD3/28

10 estimularon las células T y las células T solo se usaron como controles positivos y negativos, respectivamente. Como se muestra, diferentes células CAR-T estabilizadas térmicamente producen diferente cantidad de IFN-gamma cuando se cocultivan con células VCap de hK2 (+), que se asocia con la actividad citotóxica durante la respuesta inmunitaria mediada por células.

15

Ejemplo 8: Proliferación de células CAR-T de hK2

Las células CAR-T de hK2 se evaluaron en un ensayo de proliferación. La proliferación de células T es un parámetro *in vitro* importante de la función inmunitaria *in vivo*. Para evaluar, además, la función de las células CAR-T

20 estabilizadas térmicamente con 11B6 y recoger el constructo candidato superior, se etiquetaron con CTV las células CAR-T basadas en scFv originales y estabilizadas térmicamente con 11B6 para evaluar la proliferación de células T.

Las células T no transducidas (UTD) y CAR de hK2 se etiquetaron con CellTrace Violet (CTV; 5 μ M) y se cocultivaron con células Vcap de hK2 (+) y DU145 de hK2 (-). Cinco días después del cocultivo, las células se cosecharon y tiñeron con CD3, CD25, tinte casi IR live/dead y CAR de hK2. El análisis citométrico de flujo se realizó en un citómetro de flujo Fortessa con el software Flowjo. Los linfocitos se identificaron mediante CD3 vivos, y se determinaron las frecuencias de células CAR- T con dilución de tinte CTV y marcador de activación CD25. Mediante la selección de células CAR+ T de hK2+, como se muestra, las células Vcap de hK2(+) pero no células DU145 de hK2(-) promovieron la proliferación de todas las células T diseñadas por ingeniería de constructos de CAR y la regulación en ascenso del marcador de activación CD25 (**Figuras 10A, 10C**). Las microesferas CD3/28 estimularon las células T y las células T solo se usaron como controles positivos y negativos, respectivamente. Las células T solas sin ninguna estimulación no proliferan y las células T estimuladas con microesferas CD3/28 mostraron un patrón de proliferación equivalente (**Figuras 10B, 10D**). Como se muestra Figura 10E, las células CAR+ T de hK2 proliferan con mayor robustez que el control positivo de microesferas CD3/28 después de 5 días de cocultivo con células VCap. Las células T diseñadas por ingeniería de los constructos de CAR diferentes tienen una actividad de proliferación diferente y mostraron conteos de células CAR+ T diferentes. Los conteos de células CAR+ T se basaron en el conteo celular medio absoluto $\pm$ SEM de tres replicaciones técnicas.

El protocolo es de la siguiente manera. Las células tumorales Vcap y DU145 se recolectan, se lavan dos veces con PBS, y se resuspenden en 10E6/ml en PBS

que contiene 100 ug/ml de mitomicina C (MMC, por sus siglas en inglés) durante 1,5 horas en una incubadora a 37 °C para bloquear la proliferación de células tumorales. 20 µl de DMSO se añadió a un vial de solución de tinción de CTV. 5 µl de la solución se diluyó en 5 ml de PBS (1:1000) (se calentó a 37 °C) para

5 proporcionar una solución de tinción de 5 µM. Las células T 2E6 se contaron, se recolectaron, se lavaron con PBS dos veces y se resuspendieron en 4E6/ml (0,5 ml). Se añadió un volumen igual (0,5 ml) de solución de tinción de CTV. Las células se incubaron durante 20 minutos a 37 °C. Después, 4 ml de PRMI+20 % de FBS se añadieron a las células para absorber cualquier tinte sin fijar. Las

10 células se incubaron durante 5 minutos y se centrifugaron durante 5 minutos en 400 x g. El gránulo celular se resuspendió en el medio RPMI + 10 % de FBS precalentado. Las células T se contaron y las células 1E5 (100 µl) se sembraron en una placa de fondo plano de 96 pocillos.

Mientras tanto, las células tumorales tratadas con MMC VCap de hK2(+) y

15 DU145 de HK2(-) se recolectaron y se contaron después de 1,5 horas y, después, se resuspendieron en 1E6/ml. 1E5 de las células (100 µl) se cocultivaron con células T en una placa de 96 pocillos. Las células T solas y las células T añadidas en una relación microesferas a células CD3/28 3:1 se usaron como controles negativo y positivo, respectivamente.

20 Después de 5 días de cocultivo, todas las células se recolectaron de cada pocillo. Las células se centrifugaron y se lavaron durante 5 minutos en 400 x g dos veces, después, se tiñeron con CAR de hK2, CD3, CD8 y CD25, live/dead (casi IR) en la placa de fondo en U de 96 pocillos. Después del lavado, todas las células se fijan

durante 10 minutos usando 100 µl de regulador de fijación BD Cytifix™ (50 µl de regulador FACS + 50 µl de regulador de fijación). Las muestras teñidas se analizaron mediante citometría de flujo multicolor después del final del período de incubación.

El análisis de datos se realizó de la siguiente manera. Se preparó un histograma

5 de CTV. La selección no diluida de CVT se fijó para abarcar el pico de extremo derecho (CTV brillante) de las células T cultivadas solas y la selección diluida de CTV para capturar el resto de la población. Esto se aplicó a todas las muestras.

Ejemplo 9: Construcción y expresión de los CAR de scFv de hK2 con scFv

10 **anti-HK2**

Los constructos de CAR de hK2 que comprenden un scFv derivado de la scFv anti-HK2 novedoso se construyeron como se ilustra en la **Figura 11A**.

Para evaluar la función de estas células CAR-T de scFv anti-HK2 novedoso y

15 recoger un constructo candidato superior, las células CAR-T de LH y \ HL de hK2 se generaron usando la transducción lentiviral. Las células T humanas primarias se transdujeron con lentivirus de CAR basado en scFv novedosos, HL y LH de CAR de hK2 con una multiplicidad de infección (MOI) 3. La expresión de CAR se determinó mediante hK2 biotinilada (1 µg/ml) seguida de PE conjugada
20 con estreptavidina 14 días después de la transducción.

El protocolo experimental es de la siguiente manera.

Se realizó el empaquetado lentiviral. Las células 14E6 Lenti-X™ 293T se sembraron por placa de cultivo recubierto de colágeno I de Corning™ BioCoat™

de fondo redondo de 150 mm², y se incubaron a 37 °C durante la noche usando el medio DMEM + 10 % de FBS.

Con las células 293T Lenti-X™ en la confluencia ideal de 80- 85 %, se preparó lo siguiente. Los medios de cultivo se reemplazaron con 21 ml de medios de

- 5 crecimiento 293T. La lipofectamina 2000 se diluyó a temperatura ambiente y equilibró OptiMEM. La lipofectamina 2000 diluida se añadió a plásmidos mezclados gota a gota, y también se mezcló. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 25 minutos. La mezcla de transfección se añadió a las células Lenti-X 293T gota a gota, con la placa suavemente girada para mezclar. La mezcla se incubó en una
- 10 incubadora a 37 °C. El lentivirus se cosechó 24 y 48 horas después de la transfección. Los reactivos anteriores se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3

Reactivo	Cantidad por plato de 15 cm
pMDLg/p	18 µg
pRSV.Rev	18 µg
pMD2.G	7 µg
Plásmido de transferencia (CAR)	15 µg
OptiMEM	1500 µl

- 15 La concentración lentiviral se realizó de la siguiente manera. Los sobrenadantes que contienen lentivirus se cosecharon y se centrifugaron en 500 x g durante 10 minutos si células 293T excesivas están flotando alrededor antes de filtrarse a través de 0,45 µm de filtros de acetato de celulosa. El sobrenadante se transfirió a un recipiente estéril, se combinó con 1/3 de volumen del concentrador Lenti-X

(Clontech, cat. núm. 631232), y se mezcló por inversión suave. La mezcla se incubó a 4 °C durante la noche. La muestra se centrifugó a 1500 x g durante 45 minutos a 4 °C, con un gránulo blanco visible después de la centrifugación. El sobrenadante se extrajo cuidadosamente sin alterar el gránulo. Los

5 sobrenadantes residuales se eliminan con una pipeta después de una breve centrifugación a 1500 x g. El gránulo se resuspendió suavemente en 1/10 del volumen original usando el crecimiento de células T en frío. El virus se distribuyó en alícuotas en 200 µl e inmediatamente se almacenaron a -80 °C.

La titulación viral se realizó de la siguiente manera. La fase logarítmica SupT1 se

10 cultivó en RPMI completa. 100 µl de 20.000 células SupT1/ml se sembraron por pocillo en una placa plana de 96 pocillos. La titulación de virus se realizó, después, en placas de fondo redondo de 96 pocillos). 100 µl de medios se añadió a todos los pocillos en la placa. Una alícuota de virus se descongeló del congelador a -80 °C con las manos. La alícuota se pipeteó arriba y abajo para mezclarse bien, con 50 µl de

15 virus añadido al primer pocillo, seguido de mezclado profundo. Una dilución en serie 1:3 se realizó al pipetear 50 µl de virus al siguiente pocillo. Después, 50 µl de medios se añadió a Ab primario solamente, Ab secundario solamente y controles no transducidas. 50 µl de cada uno se transfieren a partir de la placa de titulación a

20 100 µl de células SupT1 en la placa de ensayo con una pipeta multicanal, y se incubaron a 37 °C durante la noche. 100 µl de medios precalentados se añadió a cada muestra y se incubó otros dos días. La eficacia de transducción se determinó mediante citometría de flujo. Las muestras se transfirieron a una placa de 96 pocillos de fondo redondo y se centrifugaron a 1400 RPM durante 3 minutos. El

sobrenadante se desechó rápidamente, seguido de transferencia (por adsorción) para eliminar los medios excesivos en la campana. El lavado se repitió con 150 µl de regulador FACS. Después, se realizó un protocolo de tinción adecuado para los constructos de CAR. Las muestras se resuspendieron en 150 µl de regulador FACS
5 antes del análisis de citometría de flujo

Cálculo del título viral: $\text{Título} = (\% \text{ de CAR positivo}/100) \times 2 \times 10^4 \times 20 \times \text{factor de dilución}$

10 Para excluir las integraciones de múltiples copias, se usan títulos con la transducción más cercana a 20 %.

La activación, transducción y expansión de células T se realizaron de la siguiente manera. Un vial de células T vírgenes se descongeló en un baño de agua y se añadió gota a gota a un tubo cónico de 15 ml que contiene 9 ml de
15 medios de células T precalentados (SFM de expansión de células T del TCM CTS OpTmizer + 5 % de suero humano + 100 UI de IL-2/ml). El criovial se lavó con 1 ml de medios para recuperar el número máximo y se centrifugó a 300 x g durante 8 minutos a temperatura ambiente. El gránulo se resuspendió en 10 ml de TCM fresco, se contó y se resuspendió a células 1E6 por milímetro. Las
20 células 5E5 se añadieron por pocillo en una placa de 24 pocillos. Las microesferas CD3/CD28 de $1,5 \times 10^6$ se añadieron por pocillo en un volumen de 500 µl de tal manera que el volumen total fue de 1 ml por pocillo. Veinticuatro horas después de la activación, el virus se descongeló a temperatura ambiente.

El virus se añadió en una multiplicidad de infección (MOI) de 3, se agitó suavemente para mezclarse y se retornó a la placa en la incubadora. (El título funcional lentiviral se determinó anteriormente con el ensayo de título SupT1. Un pocillo se reservó por no transducido (UTD) en el cual no se añade un virus.

- 5 Veinticuatro horas después de la transducción, 1 ml de TCM se añadió a cada pocillo. La penicilina-estreptomicina se añadió desde este punto en adelante (día 2). En los días 3-5, 4 ml de TCM se añadió por cada 2 ml de células y se transfirió a un frasco tratado de cultivo de tejido T25. Los frascos se colocaron horizontalmente en la incubadora (día 3). Un volumen igual de TCM se añadió para el cultivo de
- 10 células T (día 4). En los días 5-14, las células se verificaron cada dos días, con la viabilidad, tamaño y conteo celular registrados. La densidad celular se ajustó a un millón de células por ml. El tiempo ideal de cosecha depende de los donantes y se determina mediante el tamaño celular y la vez de expansión. Las células se congelaron generalmente cuando el tamaño celular era menor que 8 μm basado en
- 15 el contador celular de flujo MOXI con 100 a 200 veces de expansión.

- La eficacia de transducción lentiviral se verificó en el día de cosecha de la siguiente manera. Los cultivos se mezclaron bien. 100 μl de células T se cosecharon a un pocillo correspondiente en la placa de 96 pocillos con 100 μl de regulador FACS, se mezclaron y se centrifugaron a 1300 RPM durante 3
- 20 minutos a temperatura ambiente. Las células se resuspendieron en 200 μl de regulador FACS y la centrifugación se repitió a 4 °C.

Las células se resuspendieron en 100 μl de hK2 etiquetada con biotina (1 $\mu\text{g/ml}$ diluido en el regulador FACS) y se incubaron en hielo durante 30 minutos. Se

añadió 100 µl de regulador FACS y se lavó con centrifugado a 4 °C. El lavado con centrifugado se repitió después de añadir otros 200 µl de regulador FACS. La tinción con 100 µl de solución maestra que contiene el anticuerpo secundario SA-PE (1:250), tinción fijable live/dead (1:500), anticuerpos α CD3, α CD4 y α CD8 se

5 realizó en hielo durante 30 minutos. 100 µl de regulador FACS se añadió y se lavó con centrifugado a 4 °C, se desechó y se resuspendió en 200 µl de regulador FACS antes del lavado con centrifugado a 4 °C. Las muestras se resuspendieron en 100 µl de regulador FACS antes del análisis mediante citometría de flujo

La cosecha y congelación de células se realizan de la siguiente manera. Se

10 determinó el conteo celular final. El cultivo se cosechó y se centrifugó a 300 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente. El cultivo se resuspendió en un volumen más pequeño de medios para ajustarse en un tubo cónico de 50 ml. Los tubos se colocaron en imanes a 4 °C durante 10 minutos para “eliminar las microesferas”. Las células se transfirieron suavemente desde el tubo para

15 minimizar la alteración de las microesferas/imán, y el volumen exacto registrados. El conteo se repitió. La centrifugación se realizó a 300 x g durante 10 minutos, con el sobrenadante desechado. Las células se congelaron en medios de criopreservación de células CS-10 CryoStor® en un recipiente de enfriamiento. Los recipientes se transfirieron inmediatamente a -80 °C durante 24-48 horas antes del

20 almacenamiento permanente en nitrógeno líquido. Los resultados se muestran en la **Figura 11B** y confirman la expresión de CAR de hK2 en la superficie de las células T transducidas. Se proporciona un resumen del porcentaje de células CAR+ T de hK2 (% positivo) detectado por CARS de KL2B413 HL y LH novedosos y de

KL2B359 HL y LH analizados rehumanizados con 11B6. Como se muestra, los diferentes clones tienen diferente nivel de expresión de CAR; varía de 45,1 % a 59,9 %. Todas las células CAR+ T se normalizaron con las células CAR+ T iguales para ensayos funcionales posteriores.

5

Ejemplo 10: Generación de anticuerpos anti-hK2 y scFv

Generación de anticuerpos a partir de la humanización del anticuerpo m11B6 original.

10 Un anticuerpo anti-HK2 de ratones progenitor, m11B6 se ha descrito en Väisänen et al (Clinical Chemistry 50:9, 1607–1617 (2004)). El 11B6 humanizado (denominado en la presente descripción hu11B6) se ha generado y descrito en la patente de los EE. UU. núm. 9.345.782 y la patente de los EE. UU. núm. 10.100.125.

El diseño por ingeniería de hu11B6 se inició para generar anticuerpos anti-HK2
 15 adicionales con propiedades mejoradas, tales como termoestabilidad mejorada. Las posiciones de los residuos se identificaron en los marcos hu11B6 que podrían alterarse potencialmente para mejorar la termoestabilidad de hu11B6 usando el modelado. Las posiciones identificadas fueron los residuos P41, 149, M70, y A88 en la VH y S80, L82, A88 y Y91 en la VL (numeración de los
 20 residuos de acuerdo con las secuencias de aminoácidos de hu11B6_VH de la **sec. con núm. de ident.: 5** y hu11B6_VL de la **sec. con núm. de ident.: 2**). Las genotecas de scFv combinatorias binarias se generaron en la orientación VH-enlazador-VL en la que una de las regiones variables representó la genoteca

combinatoria y la segunda es la VH hu11B6 o VL original. la secuencia enlazadora de **GGSE GKSSGSGSESKSTGGS** (sec. con núm. de ident.: 7) se usó para conjugar las regiones VH/VL. Los scFv diseñados por ingeniería se expresaron en *E coli* y los scFv producidos en los sobrenadantes se evaluaron para unirse a la hK2 humana mediante ELISA y se compararon con la unión de hu11B6. Cualquier nueva variante que exhiba la unión comparable al hu11B6 se consolidó y evaluó además a la hK2 humana después de la incubación de los sobrenadantes a 55 °C, 60 °C y 65 °C durante 10 minutos. Las moléculas que retuvieron la unión comparable al hu11B6 después de la incubación a 55 °C, 60 °C y 65 °C y la termoestabilidad mejorada se matrizaron en ambas orientaciones (VH-enlazador-VL; VL-enlazador-VH) y se convirtieron en scFv de mamíferos para una caracterización adicional. Los scFv matrizados también se incorporaron en los constructos de CAR y se caracterizaron además como se describe además en el Ejemplo 11.

Además, otra humanización de 11B6 de ratones original se realizó siguiendo el enfoque descrito por Singh et al. (MAbs. 2015;7(4):778-91) con una extensa variación de la línea germinal y una detección cuidadosa de las variantes para una estabilidad térmica potenciada. Basado en la conservación de secuencias, la línea germinal de cadena pesada humana IGHV4-30 y la línea germinal de cadena ligera IGKV3D-11 se escogieron para la adaptación marco. Se construyó una genoteca de scFv binario con residuos que comprenden un conjunto selecto de sitios de hipermutación somática y variaciones de la línea germinal de ratón/humano. Las variantes se clonaron y se expresaron en *E. coli* como se describió anteriormente. Los sobrenadantes se detectaron a diferentes

temperaturas en ELISA de punto único para una estabilidad térmica potenciada. Se usó un scFv de 11B6 quimérico de ratón/humano como control original. El clon KL2B359 que mantuvo una actividad de unión similar al murino 11B6 y un valor T_m de 67 °C se convirtió en scFv-Fc y CAR-T para un perfil adicional. La

5 afinidad medida (K_D) de KL2B359 con la hK2 mediante SPR fue $\sim 0,7 - 1$ nM. HCF3-LCD6, hHCG5-LCB7, KL2B357, KL2B358 y KL2B360 también resultaron de esta campaña y se caracterizaron además por la funcionalidad.

Generación de anticuerpos usando ratones transgénicos (Asblexis®) y ratas

10 **transgénicas (OmniRat®) que expresan loci de inmunoglobulina humana.**

La OmniRat® contiene un locus IgH quimérico rata/humano (que comprende 22 V_{HS} humanos, todos los segmentos humanos D y J_H en su configuración natural enlazado al locus C_H de rata) junto con el loci de IgL totalmente humanos (12 V_K s enlazados a J_k-C_k y 16 V_L s enlazados a J_L-C_L). (ver, p. ej., Osborn, et al. (2013) J

15 Immunol 190(4): 1481-1490). En consecuencia, las ratas exhiben una expresión reducida de inmunoglobulina de rata, y en respuesta a la inmunización, los transgenes de cadena pesada y ligera humana introducidos se someten a la conmutación de clase y mutación somática para generar anticuerpos monoclonales

20 de IgG humana/rata quiméricos de alta afinidad con regiones variables totalmente humanas. La preparación y el uso de OmniRat® y las modificaciones genómicas que llevan tales ratas se describen en el documento núm. WO14/093908.

Los ratones Ablexis® generan anticuerpos que tienen dominios variables humanos enlazados a dominios CH1 y CL humanos, región bisagra humana/de ratón quimérica y regiones de Fc de ratón. Se distinguen las cepas de ratón Kappa y ratón Lambda Ablexis mediante las cuales sus cadenas pesadas son humanas o de ratón como se indica más abajo. Los anticuerpos producidos por el ratón Kappa carecen de la secuencia derivada de exones V_H, D_H y J_H de ratón y exones V_K, J_K y C_K de ratón. La Igλ de ratón endógena está activa en el ratón Kappa. Las cadenas de Igk humana comprenden aproximadamente 90-95 % del repertorio virgen y las cadenas de Igλ de ratón comprenden aproximadamente 5-10 % del repertorio virgen en esta cepa. Los anticuerpos producidos por el ratón Lambda carecen de la secuencia derivada de exones V_H, D_H y J_H de ratón y exones Vλ, Jλ y Cλ de ratón. La Igk de ratón endógena está activa en el ratón Lambda. Las cadenas de Igλ humana comprenden aproximadamente 40 % del repertorio virgen y las cadenas de Igk de ratón comprenden aproximadamente 60 % del repertorio virgen. La preparación y el uso de Ablexis® y las modificaciones genómicas que llevan tales ratones se describen en la patente núm. WO11/123708.

Los ratones Ablexis y ratas OmniRats se inmunizaron con proteína de KLK2 de longitud completa soluble (proteína 6-His de calicreína humana 2).

proteína 6-His de calicreína humana 2

VPLIEGRIVGGWECEKHSQPWQVAVYSHGWAHCGGVLVHPQWVLTAHCLKK
NSQVWLGRHNLFEPEDTGQRPVSHSFPHPLYNMSLLKHQSLRPDEDSSHDL
MLLRLSEPAKITDVVKVLGLPTQEPALGTTTCYASGWGSIEPEEFLRPRSLQCVSL

HYSEKVTEFMLCAGLWTGGKDTCCGGDSGGPLVCNGVLQGITSWGPEPCALPE
KPAVYTKVVHYRKWIKDTIAANPHHHHHH (sec. con núm. de ident.: 319)

Los linfocitos de ratones Ablexis y ratas OmniRats se extrajeron de los ganglios
5 linfáticos y las fusiones realizadas por los cohortes. Las células se combinaron y
se clasificaron para la expresión de CD138. La detección de hibridoma se realizó
en formato MSD miniaturizado de alta productividad usando un antígeno de hK2
soluble. Se identificaron aproximadamente > 300 muestras que son aglutinantes
de hK2. La unión de > 300 muestras de sobrenadante anti-hKLK2 a la proteína
10 de KLK2 humana se midió mediante el método de cinética de ciclo único
mediante Biacore 8K SPR. Adicionalmente, también se evaluaron las muestras
de sobrenadante para unirse a la proteína de KLK3 humana. En paralelo, los
sobrenadantes también se evaluaron para unirse a las líneas celulares VCap y
la línea celular negativa DU145 que expresan KLK2 mediante citometría de flujo.
15 Los aglutinantes celulares seleccionados se movieron hacia la conversión de
scFv tanto en la orientación VH-VL como VL/VH y las pruebas de estabilidad
térmica como se describió anteriormente. La KL2B413, KL2B30, KL2B53 y
KL2B242 resultaron de la campaña de inmunización de ratones Ablexis. La
KL2B467 y KL2B494 resultaron de la campaña de inmunización de OmniRat.

20

Los anticuerpos generados a través de las diversas campañas de inmunización
y humanización descritas anteriormente se expresaron en un formato de fab, un
formato de mAb, un formato de scFv en la orientación VH-enlazador-VL o un

formato de scFv en la orientación VL-enlazador-VH y se analizaron además como se describe más abajo. La secuencia enlazadora de la sec. con núm. de ident.: 7 descrita anteriormente se usó para conjugar las regiones VH/VL.

5 **Ejemplo 11. Caracterización estructural de los anticuerpos anti-KLK2**

En la presente descripción se proporcionan las secuencias de dominios variables de anticuerpos y los fragmentos de anticuerpos de scFv que mostraron un mayor rendimiento en el ensayo intracelular. Los dominios variables se expresaron en un formato Fab, un formato de scFv en la orientación VH-
10 enlazador-VL o un formato de scFv en la orientación VL-enlazador-VH.

Dominios variables VH, VL y CDR

La **Tabla 4** muestra la secuencia de aminoácidos de VH y VL de anticuerpos
15 anti-hK2 seleccionados. La **Tabla 5** muestra la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 Kabat de anticuerpos anti-hK2 seleccionados. La **Tabla 6** muestra la LCDR1, LCDR2 y LCDR3 Kabat de los anticuerpos anti-hK2 seleccionados. La **Tabla 7** muestra la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 AbM de anticuerpos anti-hK2 seleccionados. La
20 **Tabla 8** muestra la LCDR1, LCDR2 y LCDR3 AbM de la anti-hK2. La **Tabla 9** resume la secuencia de dominio variable y la sec. con núm. de ident. de anticuerpos de hK2 seleccionados. La **Tabla 10** muestra las sec. con núms. de ident. de proteínas y ADN para las regiones VH y VL.

Tabla 4. Secuencias de aminoácidos VH y VL de anticuerpos anti-hK2 seleccionados.

Nombre del mAb	Nombre VH	Secuencia de aminoácidos VH	VH sec. con núm. de ident.:	Nombre VL	Secuencia de aminoácidos VL	VL sec. con núm. de ident.:
m11B6	m11B6_VH	DVQLQESGPGLVK PSQSLSLTCTVTGN SITSDYAWNWRQF PGNRLEWMGYISY SGSTTYSPLKSRF SITRDTSKNQFFLQ LNSVTPEDTATYFC ATGYYYGSGFWG QGTLVTVSS	317	m11B6_VL	DIVLTQSPASLAVS LGQRATISCRASE SVEYFGTSLMHW YRQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPAR FSGSGSGTDFSLN IQPVEEDDFSMYF CQQTRKVPYTFG GGTKLEIK	318
h11B6	hu11B6_VH	QVQLQESGPGLVK PSDTLSLTCAVSGN SITSDYAWNWRQF PGKGLEWIGYISYS GSTTYNPSLKSRVT MSRDTSKNQFSLK LSSVTAVDTAVYYC ATGYYYGSGFWG QGTLVTVSS	5	hu11B6_VL	DIVLTQSPDSLAVS LGERATINCKASE SVEYFGTSLMHW YQKPGQPPKLLI YAASNRESGVDPDR FSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC QQTRKVPYTFGQ GTKLEIK	2
HCF3-LCD6	HCF3_VH	QVQLQESGPGLVK PSDTLSLTCAVSGN SITSDYAWNWRQF PGKGLEWIGYISYS GSTTYNPSLKSRVT ISRDTSKNQFSLKL SSVTPVDTAIVYYCA TGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	6	LCD6_VL	DIVLTQSPDSLAVS LGERATINCKASE SVEYFGTSLMHW YQKPGQPPKLLI YAASNRESGVDPDR FSGSGSGTDFTLTI QSVQAEDVSVYFC QQTRKVPYTFGQ GTKLEIK	1
HCG5-LCB7	HCG5_VH	QVQLQESGPGLVK PSDTLSLTCAVSGN SITSDYAWNWRQF PGKGLEWMGYISY SGSTTYNPSLKSRV TISRDTSKNQFSLK LSSVTPVDTAIVYYC ATGYYYGSGFWG QGTLVTVSS	4	LCB7_VL	DIVLTQSPDSLAVS LGERATINCKASE SVEYFGTSLMHW YQKPGQPPKLLI YAASNRESGVDPDR FSGSGSGTDFTLTI SSVQAEDVAVYYC QQTRKVPYTFGQ GTKLEIK	3
KL2B357	KL2B357_VH	QVQLQESGPGLVK PSQTLSTCTVSGN SITSDYAWNWRQF PGKGLEWIGYISYS GSTTYNPSLKSRVT ISRDTSKNQFSLKL SSVTAADTAIVYYCA TGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	140	KL2B357_VL	DIVLTQSPDSLAVS LGERATINCRASE SVEYFGTSLMHW YQKPGQPPKLLI YAASNVESGVDPDR FSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYFC QQTRKVPYTFGG GTKVEIK	147
KL2B358	KL2B358_VH	QVQLQESGPGLVK PSQTLSTCTVSGN SITSDYAWNWRQF PGKGLEWIGYISYS	141	KL2B358_VL	EIVLTQSPATLSLS PGERATLSCRASE SVEYFGTSLMHW YQKPGQPPRLLI	75

		GSTTYNPSLKSRVT ISRDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCA TGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS			YAASNVESGIPAR FSGSGSGTDFTLTI SSVEPEDFAVYFC QQTRKVPYTFGG GTKVEIK	
KL2B359	KL2B359_V H	QVQLQESGPGLVK PSQTLSTCTVSGN SITSDYAWNWRQF PGKRLEWIGYISYS GSTTYNPSLKSRVT ISRDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCA TGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	77	KL2B359_V L	EIVLTQSPATLSLS PGERATLSCRASE SVEYFGTSLMHW YQQKPGQPPRLI YAASNVESGIPAR FSGSGSGTDFTLTI SSVEPEDFAVYFC QQTRKVPYTFGG GTKVEIK	75
KL2B360	KL2B360_V H	QVQLQESGPGLVK PSQTLSTCTVSGN SITSDYAWNWRQF PGKGLEWIGYISYS GSTTYNPSLKSRVT ISRDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCA TGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	140	KL2B360_V L	EIVLTQSPATLSLS PGERATLSCRASE SVEYFGTSLMHW YQQKPGQPPRLI YAASNVESGIPAR FSGSGSGTDFTLTI SSVEPEDFAVYFC QQTRKVPYTFGG GTKVEIK	75
KL2B413	KL2B413_V H	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASG FTFSSYWMTWVR QAPGKGLEWVANI KQDGSERYYYDSV KGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRAED TAVYYCARDQNYD ILTGHYGMDVWGQ GTTVTVSS	76	KL2B413_V L	EIVLTQSPSFLSAS VGDRVTITCRASQ GISSYLSWYQQK GKAPKLLIYATSTL QSGVPSRFSGSG SGTEFTLTISLQP EDFATYYCQQLNS YPRTFGQGKVEI K	74
KL2B30	KL2B30_VH	QVQLQESGPGLVKP SETLSLTCTVSGGSI SSYYWSWIRQPPG KGLEWIGYIYSGST NYNPSLKSRVTISVD TSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCAGTIF GVVTPNFYYGMDV WGQGTTVTVSS	142	KL2B30_VL	DIQMTQSPSFLSA SVGDRVITICRASQ QGISSYLAWYQQK PGKAPKFLIYAAS LQSGVPSRFSGSG SGTEFTLTISLQP EDFATYYCQQLNS YPLTFGGGKVEIK	148
KL2B53	KL2B53_VH	EVQLVESGGGVVQ PGRSLRLSCVASGF TFSSYDIHWVRQAP GKGLEWVAIISYDG SKKDYTDSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQM DSL RVED SAVYSC ARESGWSHYYYG MDVWGQGTMTVS S	143	KL2B53_VL	DIVMTQSPSSLSAS VGDRVITICRASQD ISNYLAWYQQKPG KVPKFLIYAASLHS GVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDV ATYYCQKYNAPY TFGQGTREIK	149
KL2B242	KL2B242_V H	QVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGG SISSYYWSWLRQP AGSGLEWIGRLYV SGFTNYNPSLKSR	144	KL2B242_V L	SYELTQPPSVSVS PGETASITCSGDQ LGENYACWYQQK PGQSPVLVIYQDS KRPSGIPERFSGS	150

		VTLSLDPSRNQLSL KLSSVTAADTAVYY CAGDSGNYWGW DPWGQGTTLTVSS			NSGNTATLTISGT QALDEADYYCQA WDNSIVVFGGGTK LTVL	
KL2B467	KL2B467_V H	QVQLVESGGGVVQ PGRSLRLSCAASGF TFSYYGMHWVRQA PGKGLEWVAFISYD GSNKYYADSVKGRF TISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYC AHLPSGSGYWAFDY WGQGTQVTVSS	145	KL2B467_V L	QSVLTQPPSVSVA PGQTASITCGGDN IGSKSVHWYQQKP GQAPVLVVDNSD RPSGIPERFSGSN SGTTATLTISRVEA GDEADYYCQVWD SSSDHPVVFGGGT KVTV	151
KL2B494	KL2B494_V H	QVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASG FTFSHYAMSWVRQ APGKGLEWVSTIG GSGGSTYYADSVK GRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTA VYYCAKPHIVMTA LLYDGMVWGQG TMVTVSS	146	KL2B494_V L	SSELTQPPSVSVA PGQTARITCGGNN IGSKSVHWYQQKP GQAPVLVVDSD RPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRVEA GDEADYYCQVWD SSSDHVVFGGGTK LTVL	152

Tabla 5. Secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 Kabat de anticuerpos anti-KLK2 seleccionados.

Nombre del mAb	HCDR1 de Kabat		HCDR2 de Kabat		HCDR3 de Kabat	
	Secuencia	Sec. con núm. de ident.:	Secuencia	Sec. con núm. de ident.:	Secuencia	Sec. con núm. de ident.:
m11B6	SDYAWN	63	YISYSGSTTSPSL KS	64	GYYYGSGF	66
hu11B6	SDYAWN	63	YISYSGSTTYPNSL KS	65	GYYYGSGF	66
HCF3-LCD6	SDYAWN	63	YISYSGSTTYPNSL KS	65	GYYYGSGF	66
HCG5-LCB7	SDYAWN	63	YISYSGSTTYPNSL KS	65	GYYYGSGF	66
KL2B357	SDYAWN	63	YISYSGSTTYPNSL KS	65	GYYYGSGF	66
KL2B358	SDYAWN	63	YISYSGSTTYPNSL KS	65	GYYYGSGF	66
KL2B359	SDYAWN	63	YISYSGSTTYPNSL KS	65	GYYYGSGF	66
KL2B360	SDYAWN	63	YISYSGSTTYPNSL KS	65	GYYYGSGF	66
KL2B413	SYWMT	314	NIKQDGSERYYYVD	315	DQNYDILTGHYGM DV	311

			SVKG			
KL2B30	SYYWS	102	YIYYSGSTNYPNPSL KS	103	TTIFGVVTPNFYYGMD V	104
KL2B53	SYDIH	107	IISYDGSKKDYTDS VKG	108	ESGWSHYYYYGMDV	109
KL2B242	SYYWS	102	RLYVSGFTNYPNPSL KS	112	DSGNYWGWFDV	113
KL2B467	YYGMH	115	FISYDGSNKYYADS VKG	116	LPYSGSYWAFDY	117
KL2B494	HYAMS	120	TIGGSGGSTYYADS VKG	121	PHIVMTALLYDGMD V	122

Tabla 6. Secuencias de aminoácidos de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de Kabat de anticuerpos anti-hK2 seleccionados.

	LCDR1 de Kabat		LCDR2 de Kabat		LCDR3 de Kabat	
Nombre del mAb	Secuencia	Sec. con número de ident.	Secuencia	Sec. con número de ident.	Secuencia	Sec. con número de ident.
m11B6	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	69	QQTRKVPYT	71
hu11B6	KASESVEYFGTSL MH	68	AASNRES	70	QQTRKVPYT	71
HCF3-LCD6	KASESVEYFGTSL MH	68	AASNRES	70	QQTRKVPYT	71
HCG5-LCB7	KASESVEYFGTSL MH	68	AASNRES	70	QQTRKVPYT	71
KL2B357	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	126	QQTRKVPYT	71
KL2B358	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	126	QQTRKVPYT	71
KL2B359	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	69	QQTRKVPYT	71
KL2B360	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	126	QQTRKVPYT	71
KL2B413	RASQGISSYLS	312	ATSTLQS	313	QQLNSYPRT	91
KL2B30	RASQGISSYLA	128	AASTLQS	129	QQLNSYPLT	130
KL2B53	RASQDISNYLA	125	AASTLHS	131	QKYNSAPYT	132
KL2B242	SGDQLGENYAC	133	QDSKRPS	134	QAWDNSIVV	135
KL2B467	GGGNIGSSVH	136	DNSDRPS	137	QVWDSSSDHPVV	138
KL2B494	GGNNIGSKSVH	97	DDSDRPS	127	QVWDSSSDHVV	139

Tabla 7. Secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 AbM de anticuerpos anti-hK2 seleccionados.

Nombre del mAb	HCDR1 de AbM		HCDR2 de AbM		HCDR3 de AbM	
	Secuencia	Sec. con núm. de ident.:	Secuencia	Sec. con núm. de ident.	Secuencia	Sec. con núm. de ident.:
m11B6	GNSITSDYAWN	72	YISYSGSTT	73	GYYYGSGF	66
hu11B6	GNSITSDYAWN	72	YISYSGSTT	73	GYYYGSGF	66
HCF3-LCD6	GNSITSDYAWN	72	YISYSGSTT	73	GYYYGSGF	66
HCG5-LCB7	GNSITSDYAWN	72	YISYSGSTT	73	GYYYGSGF	66
KL2B357	GNSITSDYAWN	72	YISYSGSTT	73	GYYYGSGF	66
KL2B358	GNSITSDYAWN	72	YISYSGSTT	73	GYYYGSGF	66
KL2B359	GNSITSDYAWN	72	YISYSGSTT	73	GYYYGSGF	66
KL2B360	GNSITSDYAWN	72	YISYSGSTT	73	GYYYGSGF	66
KL2B413	GFTFSSYWMT	309	NIKQDGSERY	310	DQNYDILTGHYGM DV	311
KL2B30	GGSISSYYWS	105	YIYSGSTN	106	TTIFGVVTPNFYY GMDV	104
KL2B53	GFTFSSYDIH	110	IISYDGSKKD	111	ESGWSHYYYYGM DV	109
KL2B242	GGSISSYYWS	105	RLYVSGFTN	114	DSGNYWGWFDV	113
KL2B467	GFTFSYY	118	FISYDGSNKY	119	LPYSGSYWAFDY	117
KL2B494	GFTFSHYAMS	123	TIGSGSGSTYY	124	PHIVMTALLYDGM DV	122

Tabla 8. Secuencias de aminoácidos de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 AbM de anticuerpos anti-hK2 seleccionados.

5

Nombre del mAb	LCDR1 de AbM		LCDR2 de AbM		LCDR3 de AbM	
	Secuencia	Sec. con núm. de ident.:	Secuencia	Sec. con núm. de ident.	Secuencia	Sec. con núm. de ident.:
m11B6	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	69	QQTRKVPYT	71
hu11B6	KASESVEYFGTSL MH	68	AASNRES	70	QQTRKVPYT	71
HCF3-LCD6	KASESVEYFGTSL MH	68	AASNRES	70	QQTRKVPYT	71
HCG5-LCB7	KASESVEYFGTSL MH	68	AASNRES	70	QQTRKVPYT	71

KL2B357	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	126	QQTRKVPYT	71
KL2B358	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	126	QQTRKVPYT	71
KL2B359	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	69	QQTRKVPYT	71
KL2B360	RASESVEYFGTSL MH	67	AASNVES	126	QQTRKVPYT	71
KL2B413	RASQGISSYLS	312	ATSTLQS	313	QQLNSYPRT	91
KL2B30	RASQGISSYLA	128	AATLQS	129	QQLNSYPLT	130
KL2B53	RASQDISNYLA	125	AATLHS	131	QKYNAPYT	132
KL2B242	SGDQLGENYAC	133	QDSKRPS	134	QAWDNSIVV	135
KL2B467	GGGNIGSSVH	136	DNSDRPS	137	QVWDSSSDHPVV	138
KL2B494	GGNNIGSKSVH	97	DDSDRPS	127	QVWDSSSDHV	139

Tabla 9. Secuencias de aminoácidos y resumen de sec. con núms. de ident. de los dominios variables de anticuerpos anti-hK2 seleccionados

Anticuerpo	Región	Secuencia de aminoácidos	Sec. con núm. de ident.:
m11B6	HCDR1	SDYAWN	63
	HCDR2	YISYSGSTTYSPLKS	64
	HCDR3	GYYYGSGF	66
	LICDR1	RASESVEYFGTSLMH	67
	LCDR2	AASNVES	69
	LCDR3	QQTRKVPYT	71
	VH (m11B6_VH)	DVQLQESGPGVLKPSQSLSLTCTVTGNSITSDYAWNWIWQFP GNRLEWMGYISYSGSTTYSPLKSRFSITRDTSKNQFFLQLN SVTPEDTATYFCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSS	317
	VL (m11B6_VL)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYFGTSLMHWYRQ KPGQPPKLLIYAASNVEGVPARFSGSGSGTDFSLNIQPVEE DDFSMYFCQQTRKVPYTFGGGKLEIK	318
h11B6	HCDR1	SDYAWN	63
	HCDR2	YISYSGSTTYNPSLKS	65
	HCDR3	GYYYGSGF	66
	LICDR1	KASESVEYFGTSLMH	68
	LCDR2	AASNRES	70
	LCDR3	QQTRKVPYT	71
	VH (hu11B6_VH)	QVQLQESGPGVLKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWQFP PGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFSLKL	5

		SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSS	
	VL (hu11B6_VL)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQ KPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE DVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK	2
HCF3-LCD6	HCDR1	SDYAWN	63
	HCDR2	YISYSGSTTYNPSLKS	65
	HCDR3	GYYYGSGF	66
	LICDR1	KASESVEYFGTSLMH	68
	LCDR2	AASNRES	70
	LCDR3	QQTRKVPYT	71
	VH (HCF3_VH)	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQFP GKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS VTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSS	6
	VL (LCD6_VL)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQ KPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQA EDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK	1
HCG5- LCB7	HCDR1	SDYAWN	63
	HCDR2	YISYSGSTTYNPSLKS	65
	HCDR3	GYYYGSGF	66
	LICDR1	KASESVEYFGTSLMH	68
	LCDR2	AASNRES	70
	LCDR3	QQTRKVPYT	71
	VH (HCG5_VH)	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQFP GKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSS	4
	VL (LCB7_VL)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQ KPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQA EDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK	3
KL2B357	HCDR1	SDYAWN	63
	HCDR2	YISYSGSTTYNPSLKS	100 o 65
	HCDR3	GYYYGSGF	66
	LICDR1	RASESVEYFGTSLMH	67
	LCDR2	AASNVES	126
	LCDR3	QQTRKVPYT	71
	VH (KL2B357_VH)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWRQFP GKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSS	140
	VL (KL2B_357_VL)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQ KPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE DVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK	147
KL2B358	HCDR1	SDYAWN	63
	HCDR2	YISYSGSTTYNPSLKS	65
	HCDR3	GYYYGSGF	66

	LICDR1	RASESVEYFGTSLMH	67
	LCDR2	AASNVES	126
	LCDR3	QQTRKVPYT	71
	VH (KL2B358_VH)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWQRP PGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS	141
	VL (KL2B_358_VL)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQ KPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTSSVEPE DFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK	75
KL2B359	HCDR1	SDYAWN	63
	HCDR2	YISYSGSTTYNPSLKS	65
	HCDR3	GYYYGSGF	66
	LICDR1	RASESVEYFGTSLMH	67
	LCDR2	AASNVES	69
	LCDR3	QQTRKVPYT	71
	VH (KL2B359_VH)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWQFP GKRLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS	77
	VL (KL2B_359_VL)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQ KPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTSSVEPE DFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK	75
KL2B360	HCDR1	SDYAWN	63
	HCDR2	YISYSGSTTYNPSLKS	65
	HCDR3	GYYYGSGF	66
	LICDR1	RASESVEYFGTSLMH	67
	LCDR2	AASNVES	69
	LCDR3	QQTRKVPYT	71
	VH (KL2B360_VH)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWQFP GKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS	140
	VL (KL2B_360_VL)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQ KPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTSSVEPE DFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK	75
KL2B413	HCDR1	SYWMT	314
	HCDR2	NIKQDGSERYVDSVKG	315
	HCDR3	DQNYDILTGHYGM DV	311
	LICDR1	RASQGISSYLS	312
	LCDR2	ATSTLQS	313
	LCDR3	QQLNSYPRT	91
	VH (KL2B413_VH)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMTWVRQA PGKGLEWVANIKQDGSERYVDSVKGRTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDQNYDILTGHYGM DVWGQGT TVT SS	76

	VL (KL2B_413_VL)	EIVLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISSYLSWYQQKPGKA PKLLIYATSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNSYPRTFGQGTKVEIK	74
KL2B30	HCDR1	SYAWS	102
	HCDR2	YIYSGSTNYPNPSLKS	103
	HCDR3	TTIFGVVTPNFYYGMDV	104
	LICDR1	RASQGISSYLA	128
	LCDR2	AASLQS	129
	LCDR3	QQLNSYPLT	130
	VH (KL2B30_VH)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFYYGMDVWGQGTTVTVSS	142
	VL (KL2B30_VL)	DIQMTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWSYQQKPGK APKFLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCQQLNSYPLTFGGGKTKVEIK	148
KL2B53	HCDR1	SYDIH	107
	HCDR2	IISYDGSKKDYTDSVKG	108
	HCDR3	ESGWSHYYYYGMDV	109
	LICDR1	RASQDISNYLA	125
	LCDR2	AASLHS	131
	LCDR3	QKYNAPYT	132
	VH (KL2B53_VH)	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAP GKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQM DSLVRVED SAVYSCARESGWSHYYYYGMDVWGQGTMTVS S	143
	VL (KL2B53_VL)	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLAWSYQQKPGK VPKFLIYAASLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVAT YYCQKYNAPYTFGGQTRLEIK	149
KL2B242	HCDR1	SYAWS	102
	HCDR2	RLYVSGFTNYPNPSLKS	112
	HCDR3	DSGNYWGWFD	113
	LICDR1	SGDQLGENYAC	133
	LCDR2	QDSKRPS	134
	LCDR3	QAWDNSIVV	135
	VH (KL2B242_VH)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPA GSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRTLSLDPSRNQLSLKLS SVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWFDWPWGQGTLVTVSS	144
	VL (KL2B242_VL)	SYELTQPPSVSVPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQ SPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEAD YYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVL	150
KL2B467	HCDR1	YYGMH	115
	HCDR2	FISYDGSNKYYADSVKG	116
	HCDR3	LPYSGSYWAFDY	117

	LICDR1	GGGNIGSSVH	136
	LCDR2	DNSDRPS	137
	LCDR3	QVWDSSSDHPVV	138
	VH (KL2B467_VH)	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQA PGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSS	145
	VL (KL2B467_VL)	QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQ APVLVYDSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEA DYVCQVWDSSSDHPVVFGGGTKVTV	151
KL2B494	HCDR1	HYAMS	120
	HCDR2	TIGGSGGSTYYADSVKG	121
	HCDR3	PHIVMTALLYDGMDV	122
	LICDR1	GGNNIGSKSVH	97
	LCDR2	DDSDRPS	127
	LCDR3	QVWDSSSDHV	139
	VH (KL2B494_VH)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQA PGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQGTMTV SS	146
	VL (KL2B494_VL)	SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQ APVLVYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEA DYVCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	152

Tabla 10. Sec. con núm. de ident.: Secuencias de ADN de los dominios VH y VL de anticuerpos de hK2 seleccionados.

Anticuerpo	Sec. con núm. de ident. de proteína VH	Sec. con núm. de ident. de proteína VL	Sec. con núm. de ident. de ADNc de VH	Sec. con núm. de ident. de ADNc de VL
m11B6	317	318	320	326
hu11B6	5	2	321	327
HCF3-LCD6	6	1	322	328
HCG5-LCB7	4	3	323	329
KL2B357	140	147	153	161
KL2B358	141	75	154	162
KL2B359	77	75	324	330
KL2B360	140	75	155	163
KL2B413	76	74	325	331
KL2B30	142	148	156	164
KL2B53	143	149	157	165
KL2B242	144	150	158	166

KL2B467	145	151	159	167
KL2B494	146	152	160	168

Secuencias VH y VL de consenso

La **Figura 17A** muestra la alineación de secuencias de los dominios VH de
5 mu11B6, hu11B6, KL2B357, KL2B358, KL2B359, KL2B360, HCF3 y HCG5. La
Figura 2 muestra la alineación de secuencias de los dominios VL de mu11B6,
hu11B6, KL2B357, KL2B358, KL2B359, KL2B360, LDC6 y LCB7. La secuencia
de aminoácidos de consenso de la sec. con núm. de ident.: 344 y la sec. con
núm. de ident.:345 se determinaron para los dominios VH y VL,
10 respectivamente. Los residuos de HCDR y LCDR están subrayados.

Sec. con núm. de ident.: 344

QVQLQESGPGLVKPSX₁TL₂SLTCX₂VSGNSITSDYAWN₃WIRQX₃PGKGLEWX₄G
YISYSGSTT_{YNPS}LSKSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTX₅X₆DTAVYYCATG_{YYYYG}
15 SGFWGQGTLVTVSS

Donde,

X1 es D o Q;

X2 es A o T;

X3 es P o F;

20 X4 es I o M;

X5 es A o P; o

X6 es V o A.

Sec. con núm. de ident.: 345

X₁IVLTQSPX₂X₃LX₄X₅SX₆GERATX₆X₈CX₉ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPP
 X₁₀LLIYAASNX₁₁ESGX₁₂PX₁₃RFSGSGSGTDFTLTIX₁₄SLQX₁₅EDX₁₆AVYX₁₇CQ
QTRKVPYTFG X₁₈GTKX₁₉EIK

5

X₁ es D o E;X₂ es D o A;X₃ es S o T;X₄ es A o S;10 X₅ es V o L;X₆ es L o P;X₇ es I o L;X₈ es N o S;X₉ es R o K;15 X₁₀ es K o R;X₁₁ es V o R;X₁₂ es V o I;X₁₃ es A o D;X₁₄ es Q o S;20 X₁₅ es P o A;X₁₆ es F o V;X₁₇ es Y o F;X₁₈ es Q o G; y

X19 es L o V.

Fab-Fc y scFvs

- 5 Las regiones VH/VL específicas de hK2 se diseñaron por ingeniería como VH-CH1-enlazador CH2-CH3 y VL-CL y se expresaron como IgG2 o IgG4 o se diseñaron por ingeniería como scFvs en las orientaciones VH-enlazador-VL o VL-enlazador-VH. El enlazador que se usa en la scFv fue el enlazador de la **sec. con núm. de ident.: 7** descrito anteriormente. La scFv se usó para generar anticuerpos biespecíficos como
- 10 se describe en el Ejemplo 7 o para generar CAR como se describe en el Ejemplo 11.

La **Tabla 11** muestra las secuencias de aminoácidos HC de anticuerpos anti-hK2 seleccionados en el formato de mAb. La **Tabla 12** muestra las secuencias de aminoácidos LC de anticuerpos anti-hK2 seleccionados en un mAb. La **Tabla**

15 **13** resume las sec. con núms. de ident. del ADN HC y LC de anticuerpos anti-hK2 seleccionados en el formato de mAb. La **Tabla 14** muestra las secuencias de aminoácidos de scFvs seleccionados en la orientación VH-enlazador-VL o VL-enlazador-VH.

- 20 **Tabla 11. Secuencia de aminoácidos de HC (VH-CH1-enlazador CH2-CH3) de anticuerpos anti-hK2 seleccionados en un formato mAb.**

KLK2 CADENA PESADA	Sec. con núm. de ident. de proteína HC	Secuencia de aminoácidos HC
m11B6_HC	332	DVQLQESGPGLVKPSQSLTCTVTGNSITSDYAWNWIWIRQFPGRLEW

		MGYISYSGSTTYSPLKSRFSITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYFCAT GYYYGSGFWGQGTTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTTLTWNSSGLSSGVHTFPAVLQSDLYLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCAPNLLGGPSVFIFP PKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQQTQTHR EDYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLDSGYSFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGK
h11B6_HC	334	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIROPKGLGLE WIGYISYSGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ATGYYYGSGFWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
KL2B30_HC	185	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKLEWI GYIYYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAG TTIFGVVTPNFYGMVWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
K2B53_HC	187	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSYDIHWVRQAPGKGLEWV AIISYDGSKKDYTDVSKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVEDSAVYSCARE SGWSHYYYYGMVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK
KL2B242_HC	189	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWI GRLYVSGFTNYNPSLKSRTLSLDP SRNQSLKLSSVTAADTAVYYCAG DSGNYWGWFDPWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
KL2B467_HC	191	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEW VAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA HLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS

		LSLSPGK
KL2B494_HC	193	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWV STIGGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAK PHIVMTALLYDGM DVWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVS VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK

Tabla 12. Secuencias de aminoácidos de la LC (VL-CL) de anticuerpos anti-hK2 seleccionados en un formato mAb (Fab-Fc).

KLK2 CADENA LIGERA	Sec. con núm. de ident. de proteína LC	Secuencia de aminoácidos de LC
m11B6_LC	333	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYFGTSLMHWYRQKPGQPP KLLIYAASNVESGVPARFSGSGSGTDFTSLNIQPV EEDDFSMYFCQQTRK VPYTFGGGT KLEIKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PK DINVWKWIDG SERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC
h11B6_LC	335	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPP KLLIYAASNRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQTRK VPYTFGQGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
KL2B30_LC	186	DIQMTQSPSFLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIY AASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTF GGGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
KL2B53_LC	188	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIY AASLT HSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNSAPYTF GQGT RLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
KL2B242_LC	190	SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIY QDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVF GGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS
KL2B467_LC	192	QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVY DNSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDH PVVFGG GTKVTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
KL2b494_LC	194	SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVY DDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDH VVFGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA

		VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRS YSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
--	--	---

Tabla 13. Secuencias con núms. de ident. de las secuencias de ADNc de HC y LC de anticuerpos hK2 seleccionados

Anticuerpo	Sec. con núm. de ident. de proteína de HC	Sec. con núm. de ident. de proteína de LC	ADNc de HC de la sec. con núm. de ident.:	ADNc de LC de la sec. con núm. de ident.:
m11B6	332	333	336	337
hu11B6	334	335	338	339
KL2B30	185	186	195	196
KL2B53	187	188	197	198
KL2B242	189	190	199	200
KL2B467	191	192	201	202
KL2B494	193	194	203	204

- 5 **Tabla 14. Secuencias de aminoácidos del dominio variable de anticuerpos de scFvs anti-hK2 seleccionados en el formato VH-enlazador-VL (HL) o VL-enlazador-VH (LH).**

Nombre de la scFv	Acrónimo	Secuencia de aminoácidos de scFv	Sec. con núm. de ident.:
scFv1	HCG5_LDC6_HL	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQ FPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSL KLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQGT LVTVSSGGS EGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK ASESVEYFGTSLMHWYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPD RFSGSGSGTDFTLT IQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQ GTKLEIK	8
scFv2	HCG5_hu11B6_HL	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQ FPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSL KLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQGT LVTVSSGGS EGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK ASESVEYFGTSLMHWYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPD RFSGSGSGTDFTLT ISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQ GTKLEIK	9
scFv3	HCF3_hu11B6_HL	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQ FPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSL KLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQGT LVTVSSGGS EGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK ASESVEYFGTSLMHWYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPD RFSGSGSGTDFTLT ISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQ	10

		GTKLEIK	
scFv4	HCG5_LCB7_HL	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQ FPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDT SKNQFSL KLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQGT LVTVSSGGS EGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK ASESVEYFGTSLMHWYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPD RFSGSGSGTDFTLT ISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQ GTKLEIK	11
scFv5	LCD6_HCG5_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT IQSV QAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQ FPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTI SRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	12
scFv6	hu11B6_HCF3_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSL QAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQ FPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTIS RDTSKNQFSLKLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	13
scFv7	hu11B6_HCG5_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSL QAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQ FPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTI SRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	14
scFv8	LCB7_HCF3_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSV QAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQ FPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTIS RDTSKNQFSLKLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	15
scFv9	LCB7_HCG5_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSV QAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQ FPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTI SRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	16
scFv10	LCD6_HCF3_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT IQSV QAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQ FPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTIS RDTSKNQFSLKLSSVTPVDTA VYYCATGYYYGSGFWGQ GTLVTVSS	17
scFv11	hu11B6_LCB7_HL	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQ PPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTMSRDT SKNQFS LKLSSVTA VDTA VYYCATGYYYGSGFWGQGT LVTVSSGG SEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK ASESVEYFGTSLMHWYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVP DRFSGSGSGTDFTLT ISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFG	18

		QGTKLEIK	
scFv12	hu11B6_LCD6_HL	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFS LKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVTVSSGG SEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINC KASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVP DRFSGSGSGTDFTLTQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFG QGTKLEIK	19
scFv13	hu11B6_HL	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFS LKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVTVSSGG SEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINC KASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVP DRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFG QGTKLEIK	20
scFv14	LCD6_hu11B6_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTQSV QAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEGKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFS LKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVTVSS	21
scFv15	hu11B6_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEGKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFS LKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVTVSS	22
scFv16	LCB7_hu11B6_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISV QAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEGKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT SDYAWNWI RQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFS LKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVTV	23
scFv17	KL2B413_HL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSERYVDSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQNYDILTGHYGMDVWGQG TTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPSFLSA SVGDRVTITCRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTL QSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSY PRTFGQGTKVEIK	340
scFv18	KL2B413_LH	EIVLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLSWYQQKPG KAPKLLIYATSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDF ATYYCQQLNSYPRTFGQGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESK STGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSERYVDSVKGRFTISR DN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQNYDILTGHYGMDV WGQGT TTVTVSS	341
scFv19	KL2B359_HL	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWI RQFPGRLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVTVSSGGS EGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSC RASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIYAASNVESGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFG	342

		GGTKVEIK	
scFv20	KL2B359_LH	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWY QQKPGQPPRLIIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLT VEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKGGSEGKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT SDYAWNWIWIRQFPGKRLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTIS RDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQG TLVTVSS	343
scFv21	KL2B357_LH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQ FPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTISRDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLVTVSSGGS EGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCR ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGG GTKVEIK	169
scFv22	KL2B357_LH	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKGGSEGKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT SDYAWNWIWIRQFPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTIS RDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQG TLVTVSS	170
scFv23	KL2B358_LH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQ PPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTISRDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLVTVSSGGS EGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSC RASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIIYAASNVESGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFG GGTKVEIK	171
scFv24	KL2B358_LH	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWY QQKPGQPPRLIIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLT VEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKGGSEGKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT SDYAWNWIWIRQPPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTIS RDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQG TLVTVSS	172
scFv25	KL2B360_LH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQ FPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTISRDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLVTVSSGGS EGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSC RASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIIYAASNVESGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFG GGTKVEIK	173
scFv26	KL2B360_LH	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWY QQKPGQPPRLIIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLT VEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKGGSEGKSSGS GSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT SDYAWNWIWIRQFPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTIS RDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQG TLVTVSS	174
scFv27	KL2B30_LH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQP PGKLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFYYGMDVWGQGT TVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSFLSASV GDRVITICRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQS GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLT	175

		FGGGTKVEIK	
scFv28	KL2B30_LH	DIQMTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQGISSYLAWYQQKP GKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPE DFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKEIKGGSEGKSSGSGSES KSTGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYW SWIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFYYGMDVW GQGTTVTVSS	176
scFv29	KL2B53_HL	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQ APGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMDSLRVEDSAVYSCARESGWSHYYYYGMDVWGQGT MTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASLTLS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNAPY TFGQGRLEIK	177
scFv30	KL2B53_LH	DIVMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDISNYLAWYQQKP GKVPKFLIYAASLTLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DVATYYCQKYNAPYTFGQGRLEIKGGSEGKSSGSGSES KSTGGSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDI HWVRQAPGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVEDSAVYSCARESGWSHYYYYGMDV WGQGTMTVTVSS	178
scFv31	KL2B242_HL	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQP AGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRTLSLDPSRNQLSL KLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWFDWPWGQGLVTVS SGGSEGKSSGSGSESKSTGGSSYELTQPPSVSVSPGETA SITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFG GGTKLTVL	179
scFv32	KL2B242_LH	SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKP GQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAL DEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLGGSEGKSSGSGSE SKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYY WSWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRTLSLDPS SRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWFDWPWGQ GLVTVTVSS	180
scFv33	KL2B467 MCS	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVR QAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQV TVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQSVLTQPPSVSVAPG QTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDNDSDRP SGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSS DHPVVFGGGTKVTV	181
scFv34	KL2B467 MCS	QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKP GQAPVLVYDNDSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAG DEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKVTVGGSEGKSSGS GSESKSTGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSYWAF DYWGQGTQVTVSS	182
scFv35	KL2B494_HL	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQ APGKGLEWVSTIGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQG TMVTVSS GGSEGKSSGSGSESKSTGGSSSELTQPPSVSVAPGQTARI TCGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPE	183

		RFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	
scFv36	KL2B494_LH	SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQGTMTVSS	184

Ejemplo 12. Caracterización biofísica de anticuerpos anti-hK2

Afinidad y estabilidad térmica de anticuerpos anti-hK2

La afinidad de los anticuerpos de hK2 seleccionados para hK2 soluble se midió

5 mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR, por sus siglas en inglés). La SPR es una técnica libre de etiquetas para estudiar la resistencia de una interacción entre dos ligandos al medir el cambio en masa tras la formación y disociación complejas. Los anticuerpos se capturaron en un chip sensor recubierto con un anticuerpo anti-Fc seguido de la inyección de hK2 soluble en varias concentraciones

10 y momentos de asociación y disociación especificados. Después de la disociación, la superficie se regeneró con una solución adecuada para preparar la siguiente interacción. La información cinética (constantes de asociación y disociación) se extrajo al ajustar los sensogramas al modelo de Langmuir 1:1. La afinidad de unión (K_D) se informa como la relación de las constantes de velocidad ($k_{\text{activo}}/k_{\text{inactivo}}$). Los

15 valores de K_D de los anticuerpos de hK2 seleccionados se enumeran en la **Tabla 15**. La estabilidad térmica se determinó mediante fluorimetría diferencial de barrido (NanoDSF) usando un instrumento Prometheus automatizado. La NanoDSF se usó para medir T_m de moléculas en una concentración de 0,5 mg/ml en solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4. Las mediciones se realizaron al cargar las

muestras en un capilar de 24 pocillos a partir de una placa de muestra de 384 pocillos. Se realizaron ejecuciones duplicadas para cada muestra. Los períodos de escaneos térmicos de 20 °C a 95 °C a una velocidad de 1,0 °C/minuto. El triptófano intrínseco y la fluorescencia de tirosina se monitorearon en las

- 5 longitudes de onda de emisión de 330 nm y 350 nm, y la relación de F350/F330 nm se graficó contra la temperatura para generar curvas de despliegue. Los valores de T_m medidos se enumeran en la **Tabla 15**.

Tabla 15. K_D y T_m de moléculas seleccionadas

Molécula	K _D (nM)	T _m (°C)
KL2B413 (scFv)	34,3	67
KL2B359 (scFv)	0,7 - 1	67
KL2B30 (Fab)	0,460	>70
KL2B242 (Fab)	0,040	>70
KL2B53 (Fab)	0,080	>70
KL2B467 (Fab)	0,078	>70
KL2B494 (Fab)	0,053	>70

10

La scFv de KL2B413 generada a partir de la campaña de inmunización Ablexis tuvo una estabilidad térmica (T_m) de 67 °C como se mide mediante Nano DSF y una afinidad de unión (K_D) a la hK2 humana de aproximadamente 34 nM. El clon de KL2B359 obtenido para la campaña de rehumanización y que había

- 15 mantenido una afinidad de unión similar al murino 11B6 se convirtió en scFv-Fc y CAR-T para un perfil adicional. La scFv de KL2B359 muestra una T_m de 67 °C y una afinidad de unión (K_D) a la hK2 de ~0,7 – 1 nM. La Fab de KL2B30,

KL2B242, KL2B53, KL2B467 y KL2B494 mostraron afinidades de unión por debajo de 0,5 nM y valores de T_m por encima de 70 °C.

Mapeo de epítomos

5

El epítopo de los anticuerpos de KL2B seleccionados se determinó mediante espectrometría de masa de intercambio de hidrógeno-deuterio (HDX-MS, por sus siglas en inglés). El antígeno de KLK2 humana se usó para el experimento de mapeo de epítomos.

- 10 Brevemente, purificado el antígeno de KLK2 se incubó con y sin anticuerpos anti-KLK2 en el regulador de etiquetado de óxido de deuterio. La mezcla de intercambio de hidrógeno-deuterio (HDX, por sus siglas en inglés) se inactivó en diferentes puntos de tiempo mediante la adición de urea 8 M, TCEP 1 M, pH 3,0. La muestra inactivada se pasó sobre una columna de pepsina/FPXIII inmovilizada
- 15 en 600 µl/min equilibrada con regulador A (1 % de acetonitrilo, 0,1 % de FA en H₂O) a temperatura ambiente. Los fragmentos peptídicos se cargaron sobre una columna de trampa de fase inversa a 600 µl/min con regulador A y se desalaron durante 1 min (600 µl de regulador A). Los fragmentos desalados se separaron mediante una columna C18 con un gradiente lineal de 8 % a 35 % de regulador B
- 20 (95 % de acetonitrilo, 5 % de H₂O, 0,0025 % de TFA) a 100 µl/min durante 20 min y se analizó mediante espectrometría de masa. Los análisis espectrométricos de masa se llevaron a cabo usando un espectrómetro de masa LTQ™ Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Fisher Scientific) con la temperatura capilar a 275 °C,

resolución 150.000 y rango de masa (m/z) 300 – 1.800. BioPharma Finder 3,0 (Thermo Fisher Scientific) se usó para la identificación de péptidos de muestras no deuteradas antes de los experimentos de HDX. HDEaminer versión 2,5 (Sierra Analytics, Modesto, CA) se usó para extraer valores centroide de los

5 archivos de datos brutos de MS para los experimentos de HDX.

La incubación de anticuerpos de hK2, hu11B6, KL2B494, KL2B467, KL2B30, KL2B413 y KL2B53 con proteína de hK2 soluble resultó en diferentes patrones de intercambio de hidrógeno y protección general. Los segmentos protegidos se mapearon sobre la secuencia del antígeno de hK2 para visualizar los epítomos

10 de unión (**Figura 17B**). Las KL2B494, KL2B467 y KL2B30 unidas a una secuencia común que consiste en los residuos 173-178 (**sec. con núm. de ident.: 346**, KVTEF) y los residuos 230-234 (**sec. con núm. de ident.: 347**, HYRKW). La KL2B53 mostró un patrón de protección diferente y se unió a una secuencia que consiste en los residuos 27-32 (sec. con núm. de ident. **348**,

15 SHGWAH), 60-75 (**sec. con núm. de ident.: 349**, RHNLFEPEDTGQRVP) y los 138-147 (**sec. con núm. de ident.: 350**, GWGSIEPEE).

Ejemplo 13. Generación y caracterización de constructos de CAR de scFvs adicionales

20

El ectodominio de 11B6 clonado como scFv no retuvo la unión a temperatura elevada (55 °C) y, por lo tanto, se iniciaron campañas adicionales para generar nuevos anticuerpos humanizados a partir del 11B6 original.

Se generaron scFvs estabilizadas térmicamente que contienen CAR de hK2 derivados del anticuerpo 11B6. La descripción y las sec. con núms. de ident.: de los constructos de CAR que contienen scFvs estabilizadas térmicamente se proporcionan en la **Tabla 16**. Los nombres en la descripción se refieren

- 5 nuevamente a las cadenas VH o VL identificadas anteriormente, 20AA se refiere al enlazador largo de 20 aminoácidos entre los pares VH/VL en la scFv. La scFv en los CAR se clonaron en la orientación VH-L-VL o VL-L-VH.

Las scFv generadas de KL2B413_HL, KL2B413_LH, KL2B359_HL y

- KL2B359_LH también se incorporaron en constructos de CAR y se caracterizaron
10 adicionalmente. La **Tabla 16** muestra los constructos de CAR generados y sus sec. con núms. de ident. La secuencia señal usada fue

MAWVWTLFLMAAAQSIQA (sec. con núm. de ident. 24)

Tabla 16.

15

Nombre del constructo de CAR	Descripción de scFv en el CAR	Sec. con núm. de ident.: de la secuencia de aminoácidos de scFv I del CAR	Sec. con núm. de ident.: de dominio ECD completo de CAR (que incluye la secuencia señal)	Sec. con núm. de ident.: de la secuencia de aminoácidos de CAR
CAR1	HL_HCG5_LCD6_20AA (scFv1)	8	273	46
CAR2	HL_HCG5_LCh11B6_20AA (scFv2)	9	274	47
CAR3	HL_HCF3_LCB7_20AA (scFv3)	10	275	48
CAR4	HL_HCG5_LCB7_20AA (scFv4)	11	276	49
CAR5	LH_LCD6_HCG5_20AA (scFv5)	12	277	50
CAR6	LH_LCHumanized_HCF3_20AA (scFv6)	13	278	51
CAR7	LH_LCHumanized_HCG5_20AA (scFv7)	14	279	52
CAR8	LH_LCB7_HCF3_20AA (scFv8)	15	280	53

CAR9	LH_LCB7_HCG5_20AA (scFv9)	16	281	54
CAR10	LH_LCD6_HCF3_20AA (scFv10)	17	282	55
CAR11	HL_HCHumanized_LCB7_20AA (scFv11)	18	283	56
CAR12	HL_HCHumanized_LCD6_20AA (scFv12)	19	284	57
CAR13	HL_HCHumanized_LCHumanized_20AA (scFv13)	20	285	58
CAR14	LH_LCD6_HCHumanized_20AA (scFv14)	21	286	59
CAR15	LH_LCHumanized_HCHumanized_20AA (scFv15)	22	287	60
CAR16	LH_LCB7_HCHumanized_20AA (scFv16)	23	288	61
CAR17	KL2B413_HL (scFv17)	340	289	82
CAR18	KL2B413_LH (scFv18)	341	290	83
CAR19	KL2B359_HL (scFv19)	342	291	84
CAR20	KL2B359_LH (scFv20)	343	292	85
CAR21	KL2B357 HL (scFv21)	169	319	205
CAR22	KL2B357 LH (scFv22)	170	320	206
CAR23	KL2B358 HL (scFv23)	171	321	207
CAR24	KL2B358 LH (scFv24)	172	322	208
CAR25	KL2B360 HL (scFv25)	173	323	209
CAR26	KL2B360 LH (scFv26)	174	324	210
CAR27	KL2B30 HL (scFv27)	175	325	211
CAR28	KL2B30 LH (scFv28)	176	326	212
CAR29	KL2B53 HL (scFv29)	177	327	213
CAR30	KL2B53 LH (scFv30)	178	328	214
CAR31	KL2B242 HL (scFv31)	179	329	215
CAR32	KL2B242 LH (scFv32)	180	330	216
CAR33	KL2B467 HL (scFv33)	181	331	217
CAR34	KL2B467 LH (scFv34)	182	332	218
CAR35	KL2B494 HL (scFv35)	183	333	219
CAR36	KL2B494 LH (scFv36)	184	334	220
LCHumanizado se refiere a hu11B6_VL. HCHumanizado se refiere a hu11B6_VH				

Ejemplo 14: Identificación de diferentes CAR basados en scFv con activación independiente del antígeno a través de células NFAT Jurkat-Lucia™.

El factor nuclear de células T activadas (NFAT) es una familia de factores de transcripción primero identificado como un regulador de células inmunitarias. Sin intención de limitarse a la teoría, la activación de células T conduce a la afluencia de calcio, que activa la calcineurina que desfosforila la señal de localización nuclear rica en serina en el terminal N de NFAT, lo que conduce a la importación nuclear de NFAT. La señalización tónica debida a la concentración de scFv podría detectarse posteriormente mediante la luciferasa Firefly impulsada por el promotor de NFAT en la línea celular indicadora de JNL.

Las células Jurkat que contienen el gen de luciferasa impulsado por el promotor de NFAT sensible a la señalización (denominadas células JNL) se transdujeron con los diversos constructos de CAR. La unión entre el constructo de CAR y su antígeno celular cognado (hK2 en células diana) conduce a la expresión de la luciferasa en las células JNL. Los clones de KL2B413 de hK2 novedosos y de CAR de 11B6 rehumanizados se evaluaron en el ensayo reportero de JNL para la actividad dependiente del antígeno de acuerdo con el siguiente protocolo.

La transducción lentiviral se realizó de la siguiente manera. Las células JNL se cosecharon y se resuspendieron a 1E6/ml. 500 µl de células JNL y virus lentivirales en MOI de 3 se añadieron y se mezclaron al pipetear hacia arriba y abajo. La mezcla se colocó en la incubadora a 37 °C durante 24 horas. Después, 500 µl de medios de JNL se añadió a cada pocillo. El cultivo continuó en la incubadora a 37 °C. Las

células se transfirieron a un frasco T25 en el día 4. En el día 5-6, se realizó la validación de la transducción. 150 μ l de células se cosecharon para examinar la expresión de CAR a través del reactivo de detección adecuado para el CAR específico de interés (p. ej., la proteína de hK2 de biotina se usa para detectar el CAR de hK2). Las células JNL se mantuvieron a 5×10^5 /ml hasta que hubo suficientes células para congelarse o usarse para el ensayo de JNL descrito más abajo.

El ensayo de JNL se realizó de la siguiente manera. El cocultivo con líneas de células diana se realizó en la relación efectora a diana de 2:1. Las células JNL se centrifugaron para eliminar cualquier luciferasa secretada en el medio y se resuspendieron en medios frescos a 4×10^5 /ml. Las células JNL se cosecharon.

Ambas líneas de células diana de antígeno positivo y antígeno negativo se prepararon a 2×10^5 /ml. Después, 100 μ l de JNL se añadió a 100 μ l de células diana. Para el control de JNL solas, se añadió 100 μ l de medios en lugar de células diana. Para el control positivo, las células JNL solas o células JNL de CAR se añadieron a un cóctel de estimulación celular 1x y se incubaron en una incubadora a 37 °C durante 24 horas. 150 μ l de sobrenadante se cosechó en un placa de 96 pocillos y se centrifugó para eliminar las células. 100 μ l de sobrenadante se transfirió desde la placa a una placa negra de fondo sólido, seguido de la adición de 100 μ l de reactivo de detección de lucia QUANTI-luc y de la incubación a temperatura ambiente durante 5 minutos antes de la lectura con el lector de multiplacas Envision.

Las células Jurkat que contienen el gen de luciferasa impulsado por el promotor de NFAT sensible a la señalización (denominadas células JNL) se transdujeron con diversos constructos de CAR de hK2. La expresión se determinó mediante la hK2

biotinilada seguida de PE conjugada con estreptavidina. Los datos se muestran en la **Figura 12A**. La expresión de CAR en células JNL transducidas se confirmó para los clones seleccionados con 46-50 % de expresión de células en CAR de KL2B359 de 11B6 rehumanizados y 73,7-96 % de células en CAR de KL2B413.

- 5 Los datos en la **Figura 12B** muestran que la unión entre el constructo de CAR de hK2 y su antígeno celular cognado (hK2 en células diana) conducen a la expresión de la luciferasa en las células JNL. Las células JNL que contienen los clones de CAR indicados y las células JNL (UTD) se cocultivaron con líneas de células diana (células Vcap, LNCap/Hk2, LNCap, C4-2B, 22Rv1o DU145) y la
- 10 actividad de la luciferasa se midió como intensidad de luminiscencia. Los clones se consideraron activos cuando la intensidad de luminiscencia excedía 1,5 veces el nivel de células UTD en presencia de células que expresan antígenos. No se descubrió ninguna activación dependiente del antígeno para los CAR de KL2B413 nuevos y HL y LH de 11B6 rehumanizados.

15

Ejemplo 15: Las células CAR-T de HK2 se evaluaron en el ensayo de destrucción IncuCyte en tiempo real para la citotoxicidad dependiente del antígeno.

- 20 Las células CAR-T de HK2 se coincubaron con células VCaP de HK2+ y células DU145 de HK2- durante 96 horas. La relación efectora a diana (ET, por sus siglas en inglés) se calculó basada en los datos de expresión de CAR mostrados en las **Figuras 11A-11B**. Las células diana expresaron establemente un tinte nuclear rojo

que se midió mediante el sistema de imagenología IncuCyte de una manera en tiempo real. Los datos se muestran en la **Figura 13A** para las células CAR-T de HK2 coincubadas con células VCaP de HK2+, y en la **Figura 13B** para las células CAR-T de HK2 coincubadas con células DU145 de HK2-. En estas figuras, inhibición del

5 crecimiento de células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables - número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%).

Ejemplo 16. Caracterización de células CAR-T transducidas con KL2B413_HL, KL2B413_LH, KL2B359_HL o KL2B359_LH.

10

La activación de células CAR-T es dependiente del antígeno

Las células CAR-T generadas se evaluaron en el ensayo reportero de JNL para la actividad dependiente del antígeno como se describe en el Ejemplo 4.

Brevemente, las células Jurkat que contienen el gen de luciferasa impulsado por

15 el promotor de NFAT sensible a la señalización (denominadas células JNL) se transdujeron con los constructos de CAR17 (KL2B413_HL), CAR18 (KL2B413_LH), CAR19 (KL2B359_HL) o CAR20 (KL2B359_LH). La expresión de cada CAR se determinó mediante la hK2 biotinilada seguida de PE conjugada con estreptavidina. La expresión de CAR en células JNL transducidas

20 se confirmó para los clones seleccionados con 46-50 % de células que expresan CAR basados en KL2B359 y 73,7-96 % de células que expresan CAR basados en KL2B413 como se muestra en la **Figura 6**. El porcentaje de células JNL que

expresa cada CAR fue el siguiente: KL2B413_HL: 73,7 % de KL2B413_LH
93,6 % de KL2B359_HL 46 % de KL2B359_LH 50,8 %.

La unión entre el constructo de CAR de hK2 y su antígeno celular cognado (hK2 en células diana) conduce a la expresión de la luciferasa en las células JNL. Para
5 ello, las células JNL transducidas con los constructos de CAR de prueba o las células JNL no transducidas (UTD) se cocultivaron con líneas de células diana (VCap, LNCaP/hK2 (células LNCaP que expresan de manera recombinante la hK2), células LNCaP, C4-2B, 22Rv1 o DU145) y la actividad de la luciferasa se midió como intensidad de luminiscencia. Los constructos se consideraron activos
10 cuando la intensidad de luminiscencia excedía 1,5 veces el nivel de células UTD en presencia de células que expresan antígenos. No se encontró la activación dependiente del antígeno para los constructos de CAR evaluados. La **Figura 13A** muestra las RLU (unidades relativas de luz) que resultan de la unión de las células CAR-T a las células diana de prueba indicadas en la Figura.

15 **Las células CAR-T producen citocinas tras la estimulación del antígeno**

El IFN- γ producido por células T citotóxicas es esencial para ejercer la vigilancia inmunitaria de los tumores, que puede inhibir directamente la proliferación e inducir la apoptosis de algunas malignidades *in vivo* e *in vitro*. Para determinar si las células T humanas modificadas con CAR de hK2 pudieron reconocerse y activarse
20 mediante las células tumorales de hK2 positiva, las células T primarias transducidas con los clones de CAR indicados y controlar las células T no transducidas (UTD) se cocultivaron con líneas de células diana (células LNCap/Hk2, LNCap, C4-2B, 22Rv1 o DU145) y se recolectó sobrenadante para la

medición de la concentración de IFN- γ . Como se muestra en la **Figura 14**, las células CAR-T transducidas con células de CAR de hK2 secretaron IFN- γ durante el cocultivo con células LNCap que expresan de manera recombinante las células (LNCap/hK2) de hK2 y también durante el cocultivo con células C4-2B y LNCap que expresan hK2 muy baja pero no células DU145 de hK2 negativa. Se muestra la concentración media de IFN- $\gamma \pm$ SD (pg/ml) de cultivos duplicados en la **Figura 14**.

Las células CAR-T proliferan de manera dependiente del antígeno

Las células CAR-T se evaluaron para su proliferación usando el protocolo de ensayo de proliferación de células T descrito en el Ejemplo 4. Las células T no transducidas (UTD) y CAR-T de hK2 se etiquetaron con CellTrace Violet (CTV; 5 μ M) y se cocultivaron con células VCap de hK2 positiva y DU145 de hK2 negativa. Cinco días después del cocultivo, las células se cosecharon y tiñeron con CD3, CD25, tinte casi IR live/dead y CAR de hK2. El análisis citométrico de flujo se realizó en un citómetro de flujo Fortessa con el software Flowjo. Los linfocitos se identificaron mediante CD3 vivas, y se determinaron las frecuencias de células CAR- T con dilución de tinte CTV y marcador de activación CD25. Mediante la selección de células T CD3⁺, las células Vcap de hK2 positiva pero no las células DU145 de hK2 negativa promovieron la proliferación de cada línea de células CAR-T evaluada, como se muestra en las **Figuras 10C, 10D y 10E**, y la regulación en ascenso del marcador de activación CD25, como se muestra en la **Figura 11B y Figura 12A**. Las células T solas sin ninguna estimulación no proliferaron y las células T estimuladas con microesferas CD3/28 mostraron un patrón de proliferación equivalente. Las células CAR⁺ T de hK2 proliferaron con mayor robustez que el control positivo de microesferas CD3/28

después de 5 días de cocultivo con células VCap. Las diferentes células CAR-T evaluadas tuvieron una actividad de proliferación diferente y mostraron conteos de células CAR- T diferentes. El porcentaje de células T en proliferación y células T que expresan CD25 se basó en el conteo celular medio absoluto +/- SEM por duplicado.

5

Ejemplo 17: Producción de IFN-gamma de la citocina Th1 de células CAR-T estimuladas con antígeno.

Sin intención de limitarse a la teoría, el IFN- γ producido por células T citotóxicas es esencial para ejercer la vigilancia inmunitaria de los tumores, lo que puede inhibir directamente la proliferación e inducir la apoptosis de algunas malignidades *in vivo* e *in vitro*.

Para determinar si las células T humanas modificadas con CAR de Hk2 pudieron reconocerse y activarse mediante las células tumorales de hK2 (+), las células T primarias que contienen los clones de CAR indicados y controlar las células T no transducidas (UTD) se cocultivaron con líneas de células diana (células LNCap/Hk2, LNCap, C4-2B, 22Rv1 o DU145) y se recolectó sobrenadante para la medición de la concentración de IFN-g. Los datos se muestran en la **Figura 14** como la concentración media de IFN- γ $\pm$ SD (pg/ml) de cultivos duplicados. Como se muestra, las células T modificadas con el CAR de hK2 secretan el IFN-gamma durante el cocultivo con células LNCap/hK2 que expresan hK2, incluso células C4-2B y LNCap que expresan Hk2 muy baja pero no células DU145 de

hK2 negativa. El CAR de control no descrito secretó una cantidad mucho mayor de IFN- y debido al nivel de expresión de antígeno mucho mayor que hK2.

Ejemplo 18: Ensayo de desgranulación de CD107a para evaluar la actividad

5 **antitumoral de las células CAR-T de hK2.**

Sin intención de limitarse a la teoría, las células tumorales pueden reconocerse y destruirse mediante linfocitos citotóxicos, tales como linfocitos T CD8+ y células destructoras naturales (NK), principalmente a través de la secreción

10 inmunitaria de gránulos líticos que destruyen las células diana. Este proceso implica la fusión de la membrana granulada con la membrana citoplasmática de la célula efectora inmunitaria, lo que resulta en la exposición a la superficie de proteínas asociadas con lisosomas que típicamente están presentes en los gránulos líticos que rodean la bicapa lipídica, tales como CD107a. Por lo tanto,

15 la expresión de la membrana de CD107a constituye un marcador de la activación de células inmunitarias y la desgranulación citotóxica.

El ensayo de desgranulación se realizó de la siguiente manera. Las células diana (5×10^4) se cocultivaron con un número igual de células efectoras en 0,1 ml por pocillo en una placa de 96 pocillos. Los pocillos de control contenían

20 células T solas. Se añadió anti-CD107a (5 µl por pocillo) además de 1 µl/muestra de monensina (BD Biosciences) seguido de la incubación durante 4 horas a 37 °C. Las células se lavaron dos veces con PBS, se tiñeron para la

expresión del CAR de hK2, CD3 y CD8 y se analizaron en un citómetro de flujo BD Fortessa. Los datos se muestran en la **Figura 15**.

Como se muestra, la presencia de antígeno de hK2 en células Vcap conduce a un aumento en las células CAR(+) T de hK2 de CD107A+, pero no en células T UTD y
5 CAR(-) de hK2 medidas por citometría de flujo. Solo se vio la tinción de fondo (< 2 %) en las células CAR-T sin estimulación de células tumorales. El forbol 12-miristato 13-acetato (PMA) en combinación con la ionomicina (cóctel de estimulación celular de eBioscience™; 500 X) fue un inductor consistente de la expresión de la superficie de
10 células CD107a en este modelo de cultivo celular de 4 horas, que se usó como un control positivo. Los resultados mostrados en la **Figura 15** son para las células T de donantes representativas y son reproducibles en múltiples donantes.

Ejemplo 19: La proliferación de células T es un parámetro *in vitro* importante de la función inmunitaria *in vivo*.

15

Para evaluar además la función de células CAR-T de KL2B413 novedosas y de (KL2B359) 11B6 rehumanizadas y para ayudar a recoger el constructo candidato superior, las células CAR-T se etiquetaron con CellTrace™ Violet (CTV; 5 uM) para el ensayo de proliferación de células T. Se siguió el siguiente
20 protocolo con los resultados mostrados en las **Figuras 16A-16D**.

Las células tumorales Vcap y DU145 se recolectaron y se lavaron dos veces con PBS. Las células se resuspendieron en 10E6/ml en PBS que contenía 100 ug/ml de mitomicina C (MMC) durante 1,5 horas en una incubadora a 37 °C para bloquear la

proliferación de células tumorales. 20 µl de DMSO se añadió a un vial de solución de tinción de CTV. Después, 5 µl de solución se diluyó en 5 ml (1:1000) de PBS (se calentó a 37 °C) para proporcionar una solución de tinción de 5 µM. Las células T 2E6 se contaron y se recolectaron, se lavaron con PBS dos veces y, después, se resuspendieron en 4E6/ml (0,5 ml). Se añadió un volumen igual (0,5 ml) de solución de tinción de CTV. Las células se incubaron durante 20 minutos a 37 °C. Después de 20 minutos, se añadió 4 ml de PRMI + 20 % de FBS a las células para absorber cualquier tinte sin fijar, y las células se incubaron durante 5 minutos. Las células se centrifugaron durante 5 minutos en 400 x g, seguido de la resuspensión del gránulo celular en el medio RPMI +10 % de FBS precalentado. Las células T se contaron y las células 1E5 (100 µl) se sembraron en una placa de fondo plano de 96 pocillos. Mientras tanto, las células tumorales tratadas con MMC VCap de hK2(+) y DU145 de HK2(-) se recolectaron y se contaron después de 1,5 horas y, después, se resuspendieron en 1E6/ml. Las células 1E5 (100 µl) se cocultivaron con células T en una placa de 96 pocillos. Las células T solas y las células T añadidas en una relación microesferas CD3/28 a células 3:1 se usaron como controles negativo y positivo, respectivamente.

Después de 5 días de cocultivo, todas las células se recolectaron de cada pocillo. Las células se centrifugaron y se lavaron durante 5 minutos en 400 x g dos veces, y se tiñeron con CAR de hK2, CD3, CD8 y CD25, live/dead (casi IR) en la placa de fondo en U de 96 pocillos. Después del lavado, todas las células se fijaron durante 10 minutos usando un regulador de fijación BD Cytfix™ (50 µl de regulador FACS +

50 µl de regulador de fijación) en 100 µl. Las muestras teñidas se analizaron mediante citometría de flujo multicolor después del final del período de incubación. El análisis citométrico de flujo se realizó en un citómetro de flujo Fortessa con el software Flowjo. Los linfocitos se identificaron mediante CD3 vivas, y se

5 determinaron las frecuencias de células CAR+T con dilución de tinte CTV y marcador de activación CD25.

Para preparar un histograma CTV, la selección no diluida de CVT se fijó para abarcar el pico de extremo derecho (CTV brillante) de células T cultivadas solas y la selección diluida de CTV para capturar el resto de la población. Esta

10 configuración se aplicó a todas las muestras. Se añadió una estadística para incluir el número absoluto de células en la población diluida de CTV. Se creó una tabla con esta estadística, seguida de la exportación de datos (conteos celulares) a Excel para reformatearla antes de transferirla a Prism.

Las **Figuras 16A-16D** muestran los resultados de un ensayo de proliferación de

15 células CAR-T de hK2. Mediante la selección de células T CD3+, como se muestra en las **Figuras 16A-16B**, las células Vcap de hK2(+) pero no células DU145 de hK2(-) promovieron la proliferación de todas las células T diseñadas por ingeniería de constructos de CAR y la regulación en ascenso del marcador de activación CD25, como se muestra en la **Figuras 16C-16D**. Las células T estimuladas por

20 microesferas CD3/28 se usaron como controles positivos y las células T solas se usaron como controles negativos. Las células T solas sin ninguna estimulación no proliferan y las células T estimuladas con microesferas CD3/28 mostraron un patrón de proliferación equivalente. Como se muestra, las células CAR+ T de hK2 proliferan

con mayor robustez que el control positivo de microesferas CD3/28 después de 5 días de cocultivo con células VCap. Las células T diseñadas por ingeniería de constructo de CAR diferentes tienen una actividad de proliferación diferente y mostraron conteos de células CAR+ T diferentes. El resumen del porcentaje de células T en proliferación y células T que expresan CD25 basado en el conteo celular medio absoluto +/- SEM por duplicado se muestra en las **Figuras 16B y 16D**.

Ejemplo 20: Construcción y expresión de los CAR de scFv de hK2

Se construyen constructos de CAR de hK2 que comprenden las siguientes

10 secuencias de scFv:

KL2B357 HL:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDT
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYGSGFWGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQS
PDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

(sec. con núm. de ident.: 221)

KL2B357 LH:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPS
QTLSTCTVSGNSITSDYAWNIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTTSKNQFSLKLSSVTA
ADTAVYYCATGYGSGFWGQGLTVTVSS

(sec. con núm. de ident.: 222)

KL2B358 HL:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISR
DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYGSGFWGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSEIVLT
QSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFT
LTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

(sec. con núm. de ident.: 223)

KL2B358 LH:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSG
 TDFTLTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLV
 KPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIROPKPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS
 VTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSS

(sec. con núm. de ident.: 224)

KL2B360 HL:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIROPKPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRTISR
 DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLT
 QSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDF
 LTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

(sec. con núm. de ident.: 225)

KL2B360 LH:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSG
 TDFTLTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLV
 KPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIROPKPGKLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS
 VTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSS

(sec. con núm. de ident.: 226)

KL2B30 HL:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISVD
 TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFYGMVWGQGTITVTVSSGGSEGKSSGSGSESKST
 GGSDIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSG
 TEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK

(sec. con núm. de ident.: 227)

KL2B30 LH:

DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFT
 LTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK GGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSE
 TSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD
 TAVYYCAGTTIFGVVTPNFYGMVWGQGTITVTVSS

(sec. con núm. de ident.: 228)

KL2B53 HL:

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTIS
 RDNSKNTLYLQMDSLRVED SAVYSCARES GWSHYYYYGMVWGQGTMTVTVSSGGSEGKSSGSGSESK
 STGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASLTLSGVPSPRFSGSGS
 GTDFLTISLQPEDVATYYCQKYNAPYTFGQGTREIK

(sec. con núm. de ident.: 229)

KL2B53 LH:

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASLTLSGVPSPRFSGSGSGTDF
 LTISLQPEDVATYYCQKYNAPYTFGQGTREIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGVVQPG
 RSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMDSLR
 VED SAVYSCARES GWSHYYYYGMVWGQGTMTVTVSS

(sec. con núm. de ident.: 230)

KL2B242 HL:

QVQLQESGPGLVKLPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRVTLSL
DPSRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWFDWPWGQGTTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGS
SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTAT
LTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVL

(sec. con núm. de ident.: 231)

KL2B242 LH:

SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATL
TISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKLPSETL
SLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRVTLSLDPSRNQLSLKLSSVTAADTA
VYYCAGDSGNYWGWFDWPWGQGTTLTVSS

(sec. con núm. de ident.: 232)

KL2B467 HL:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQS
VLTQPPSVSVAPGQTASITCGDNIKSVHWYQQKPGQAPVLVYDSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTISR
VEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFVGGGKTVTV

(sec. con núm. de ident.: 233)

KL2B467 LH:

QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGDNIKSVHWYQQKPGQAPVLVYDSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTI
SRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFVGGGKTVTVGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGVVQPGR
SLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSS

(sec. con núm. de ident.: 234)

KL2B494 HL:

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQGTMTVTVSSGGSEGKSSGSGS
ESKSTGGSSSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERF
SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFVGGGKTLTVL

(sec. con núm. de ident.: 235)

KL2B494 LH:

SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNT
ATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFVGGGKTLTVLGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGG
GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQGTMTVTVSS

(sec. con núm. de ident.: 236)

Los constructos de CAR de hK2 comprendían las siguientes secuencias:

KL2B357 HL:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISR
 DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLT
 QSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFT
 LTISSLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
 RGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM
 AEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 205)

KL2B357 LH:

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGS
 GTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKGSGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKL
 SSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSSSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
 RGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM
 AEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 206)

KL2B358 HL:

VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISR
 TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQ
 SPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTL
 TISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR
 GLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGGCEL
 RVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
 EAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 207)

KL2B358 LH:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSG
 TDFTLTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKGSGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLV
 KPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS
 VTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSSSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG
 LDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGGCEL
 VKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
 YSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 208)

KL2B360 HL:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISR
 DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLT
 QSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFT
 LTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
 RGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM
 AEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 209)

KL2B360 LH:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIYAASNVESGIPARFSGSGSG
 TDFTLTISSEVEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLV
 KPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSS
 VTAADTAVYYCATGYGSGFWGQGLTVTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG
 LDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL
 VKFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 210)

KL2B30 HL:

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYNPSLKSRTISVD
 TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFYIGMDVWGQGTTVTVSSGGSEKSSGSGSESKST
 GGSDIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSG
 TEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA
 VHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE
 GCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDK
 KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 211)

KL2B30 LH:

DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFT
 LTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGKVEIK GGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPS
 ETLSTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTA
 DAVYYCAGTTIFGVVTPNFYIGMDVWGQGTTVTVSSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA
 VHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE
 GCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDK
 KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 212)

KL2B53 HL:

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTIS
 RDNSKNTLYLQMDSLRVED SAVYSCARESGWSHYYYYGMDVWGQGTMTVTVSSGGSEKSSGSGSESK
 STGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASLTLSGVPSPRFSGSGS
 GTDFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPYTFGQGRLEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG
 AVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE
 GGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDK
 DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 213)

KL2B53 LH:

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASLTLSGVPSPRFSGSGSGTDFT
 LTISLQPEDVATYYCQKYNAPYTFGQGRLEIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGVVQPG
 RSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMDSLR
 VED SAVYSCARESGWSHYYYYGMDVWGQGTMTVTVSSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG
 AVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE
 GGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDK
 DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 214)

KL2B242 HL:

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRLVTL
 DPSRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWFDPWGQGTTLTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGS
 SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTAT
 LTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
 RGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM
 AEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 215)

KL2B242 LH:

SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTAT
 LTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPS
 ETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRLVTLSDPSRNQLSLKLSSVTA
 ADTAVYYCAGDSGNYWGWFDPWGQGTTLTVSSSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
 RGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM
 AEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 216)

KL2B467 HL:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFT
 ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPSGSYWAFDYWGQGTQVTVSSGGSEKSSGSGSESKST
 GGSQSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDRPSGIPERFSGSNSG
 TTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKVTVTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA
 GGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE
 EEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE
 LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 217)

KL2B467 LH:

QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDRPSGIPERFSGSNSGTTA
 TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKVTVVGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGV
 VQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL
 QMNSLRAEDTAVYYCAHLPSGSYWAFDYWGQGTQVTVSSSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA
 AGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE
 EEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
 ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 218)

KL2B494 HL:

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGSGGGSTYYADSVKGRFT
 ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMVTALLYDGMVWGQGTMTVTVSSGGSEKSSGSGSES
 KSTGGSSSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDSDRPSGIPERFSGS
 NSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
 RPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC
 RFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQE
 GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 219)

KL2B494 LH:

SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA
 TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGL
 VQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL
 QMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMVWGQGTMTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
 RPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC
 RFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQE
 GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(sec. con núm. de ident.: 220)

La células T estimuladas de CD3/CD28 del Dynabeads Human T-Expander se sometieron a electroporación, después se lavaron tres veces con OPTI-MEM (Invitrogen) y se resuspendieron en OPTI-MEM en la concentración final de

5 50E6/ml. Posteriormente, 0,1 ml de las células (5E6) se mezcló con 10 ug de IVT CAR que codifica el ARN y se electroporó en una cubeta de 2-mm de Gap (Harvard Apparatus BTX, Holliston, MA, EE. UU.) usando un BTX ECM830 (Harvard Apparatus BTX, Holliston, MA, EE. UU.) al presionar el botón “pulsar” una vez. (Configuraciones: 500 voltios, longitud de pulso de 750 μ s y pulso único

10 (1), intervalo de 100 ms) Después de la electroporación, las células T se transfieren a una placa de 6 pocillos e inmediatamente se pusieron de nuevo en una incubadora a 37 °C. Las células T humanas primarias se electroporan sin ARNm (SIMULADO) o 10 μ g de ARNm que expresa ya sea el CAR de scFv de hK2 o CAR de control irrelevante. 24 horas después de la electroporación, la

15 expresión de la superficie de CAR se mide mediante citometría de flujo después de la tinción con 2 μ g/ml de proteína L biotinilada y PE conjugada con estreptavidina, o hK2 biotinilada (1 μ g/ml) y PE conjugada con estreptavidina. Veinticuatro horas después de la electroporación, se cuentan las células T. Las células T 1E5 se recolectaron para cada una. Las células se lavaron con un

regulador FACS dos veces usando 200 µl/pocillo de regulador FACS para placas de microtitulación, con el sobrenadante desechado. Todos los pocillos se tiñeron con un regulador de tinción de 100 µl que contenía proteína L (Genscript, cat. núm. M000971:500; 2 ug/ml), se incubaron durante al menos 30 minutos a 4 °C

5 mientras que se protegían de la luz. Las células se lavaron al añadir un regulador FACS dos veces usando 150 µl/pocillo para placas de microtitulación con regulador FACS. La centrifugación en 400 x g se realizó durante 4 minutos a temperatura ambiente. Después, se desecha el sobrenadante. Todos los pocillos se tiñen con 100 µl de estreptavidina-R-ficoeritrina (SA-PE; 1:250) y un tinte de

10 tinción de células muertas casi IR fijable Live/Dead (1:1000), se incuban durante al menos 30 minutos a 4 °C mientras que se protegían de la luz. Después, las células están listas para el análisis de citometría de flujo.

La observación de la tinción de proteína L se ve para los CAR de hK2, mientras que solo la tinción de fondo (~5,5 %) se ve en las células T de control que eran

15 células T sin la electroporación del ARNm. La expresión de CAR en células T humanas primarias también puede detectarse a través de la proteína de KLK2 recombinante etiquetada con biotina interna J&J seguida de SA-PE. Como se muestra, las células T expresan eficazmente CAR de hK2 como se mide mediante citometría de flujo, mientras que solo la tinción de fondo se ve en las

20 células T de control que son células T sin electroporación de ARNm o CAR de control no divulgado (hK2 no específica).

Ejemplo 21: Destrucción de células tumorales mediante células CAR-T de hK2

El cocultivo de CellTrace Violet (CTV, catálogo científico de Thermo Fisher número: C34557) basado en el ensayo de citotoxicidad usando el citómetro de flujo se realiza de la siguiente manera.

- 5 Las células T se preparan de la siguiente manera. Veinticuatro horas después del EP, las células T se cuentan y resuspenden en la concentración necesaria para la E:T más concentrada/deseada. Las células T se añaden a 100 µl/pocillo de ensayo (2×10^6 de células/ml; se sembraron 100 µl en una relación 10:1 E:T, es decir, las células T 2×10^5 por células diana 2×10^4). Se elabora una materia prima de
- 10 la concentración 10:1 E:T con diluciones en serie dobles elaboradas con medios de células T completos (optimizador con CTS, 5 % de suero humano, 1 % de GlutaMax) a 0,3125:1. Las células T se siembran (100 µl/pocillo) por triplicado usando una placa tratada de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos. Las células diana etiquetadas de CTV se prepararon de la siguiente manera. 20 µl
- 15 de DMSO se añade a un vial de solución de tinción de CTV. Esta solución de materia prima se diluyó en 20 ml de PBS (calentado hasta 37 °C) para una solución de tinción de 5 µM. Las células tumorales 10×10^6 se recolectaron, se lavaron con PBS dos veces y se resuspendieron en 4×10^6 /ml (2,5 ml). Se añade un volumen igual (2,5 ml) de solución de tinción de CTV. Las células se incubaron
- 20 durante 20 minutos en una incubadora a 37 °C. 40 ml de RPMI + 20 % de FBS se añaden a las células para absorber cualquier tinte sin fijar. Las células se incuban durante 5 minutos. Las células se centrifugan durante 5 minutos en 400 x g. El gránulo celular se resuspende en el medio RPMI + 10 % de FBS precalentado.

Mientras tanto, las células T se siembran en la relación E/T deseada descrita anteriormente. Las líneas de células tumorales de hK2+ y una línea de células tumorales de hK2- se recuentan y, después, las células se resuspenden en 2E5/ml y 100 ul por duplicado. Las células se coincuban con las líneas de células tumorales etiquetadas en una placa de 96 pocillos de fondo plano.

Se realiza un ensayo de citotoxicidad de la siguiente manera usando un citómetro de flujo. Después de 20 horas de cocultivo, todas las células se transfieren a una placa de 96 pocillos de fondo en U y se lavan. Después de 20 horas de cocultivo todas las células se recolectan de una placa de 96 pocillos de fondo plano y se transfieren a una placa de 96 pocillos de fondo en U y, después, se lavan. 30 µl de 0,25 % de tripsina se añade a todos los pocillos y se incuba durante 5 minutos en una incubadora a 37 °C. Después de 5 minutos, todas las células tumorales se recolectan a una placa de 96 pocillos de fondo en U. Las células se centrifugan y lavan durante 5 minutos en 400 x g dos veces. El gránulo celular, después, se resuspende en un tinte de tinción casi IR fijable LIVE/DEAD™ (1:1000) diluido (100 µl). Las células se incuban durante 30 min a 4 °C, y se lavan con un regulador FACS dos veces al centrifugar las células durante 5 minutos en 400 x g. Después del lavado, todas las células se fijan durante 10 minutos usando 100 µl de regulador de fijación BD Cytifix™ (50 ul de regulador FACS + 50 ul de regulador de fijación).

Las células se centrifugan y lavan durante 5 minutos en 400 x g una vez. El gránulo celular se resuspende en el regulador FACS. Las muestras teñidas se analizan mediante citometría de flujo multicolor después del final del período de incubación. El porcentaje de actividad citotóxica se calcula usando la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \text{\% de muerte específica} = & \text{\% de células casi IR+CTV+(muertas)} - \text{\% de células} \\ & \text{espontáneas casi IR+CTV+} / (100 \% - \text{\% de células espontáneas casi} \\ & \text{IR+CTV+(muertas)}) \times 100 \%. \end{aligned}$$

- 5 Veinticuatro horas después de la transfección transitoria, las células diana (Vcap de hK2 positiva y DU145 de hK2 negativa) se etiquetan con tinte fluorescente Cell Trace Violet (CTV) y, después, se cocultivaron con células CAR-T de hK2. Las células T simuladas sirven como controles efectores negativos. Las células se cocultivaron durante 20 horas en las relaciones célula efectora a diana (E/T)
- 10 que varían de 0,3125:1 a 10:1. El porcentaje de destrucción se mide como la relación del número absoluto de células (positivas CTV) diana (negativas de tinte de viabilidad) vivas que permanecen en el cocultivo en relación con el número de células diana vivas cultivadas sin células CAR-T. Como se muestra, las células CAR-T de hK2 específicamente y eficazmente lisaron las líneas de
- 15 células cancerosas humanas de hK2(+), pero no las células de hK2(-) en relaciones E/T de 10:1 a 0,3125:1, mientras que solo la citotoxicidad de fondo se ve en las células T que fueron CAR simulados o de hK2.
- Las células CAR-T de hK2 también se evalúan por citotoxicidad en tiempo real usando xCELLigence como un sistema de análisis celular en tiempo real como un
- 20 ensayo de potencia para citólisis mediada por células inmunes de células diana. 50 µl de medios de cultivo de células cancerosas diana se añade a cada pocillo de las placas E de 96 pocillos (ACEA Biosciences), y la impedancia de fondo se mide y se muestra como un índice de células. Después, las células diana adherentes de

hK2(+) y hK2(-) se disociaron y se sembraron a una densidad de células 5E4 (VCap), 5E3/pocillo de la placa E en un volumen de 100 µl, y se permitieron adherirse pasivamente en la superficie de electrodos. Después de la siembra, la placa E se mantiene a temperatura ambiente dentro de una campana de flujo laminar durante

5 30 minutos y, después, se transfirió al instrumento RTCA MP dentro de una incubadora de cultivo celular. La grabación de datos se inicia inmediatamente en intervalos de 15 minutos durante toda la duración (96 horas) del experimento. En el momento que se aplica el tratamiento (24 horas después de la siembra de células cancerosas), se pausa la adquisición de datos, 50 µl de medios se extrajeron

10 de cada pocillo y células CAR-T efectoras se añaden en diferentes relaciones efectoras a diana (E:T) en un volumen de 50 µl. Las células CAR-T de hK2(+) y CAR T (hK2 no específico) de control no divulgadas se resuspenden. Las diluciones dobles se realizan, después, por duplicado en una placa de 96 pocillos (una relación E/T de 5:1 a 0,156:1). Los controles de dianas más efectoras simulados (ninguna

15 célula T de electroporación de ARN) también se añaden a las células diana. Las células diana hK2(+) y hK2(-) se incuban con simulación, 10 µg de ARNm se electroporaron (24 horas después de la transfección) en las células CAR-T de hK2(+) de hK2 y CAR-T de hK2(-) en diferentes relaciones E/T durante aproximadamente 72 horas. Se generan lotes de índice de células (IC)

20 normalizado para hK2(+) y hK2 (-). Cuando se sembraron solas, las células diana se adhirieron a la placa y proliferaron, lo que aumentó la lectura del IC.

Ejemplo 22: Producción de citocinas mediante células CAR-T de hK2

El IFN- γ producido por células T citotóxicas permite ejercer la vigilancia inmunitaria de los tumores, que puede inhibir directamente la proliferación e inducir la apoptosis de algunas malignidades *in vivo* e *in vitro*. Para determinar si

5 las células CAR-T de hK2 pueden reconocerse y activarse mediante células tumorales de hK2 (+), el sobrenadante se recolectó del ensayo de destrucción basado en xCELLigence, como se describe en el Ejemplo 21. Después de aproximadamente 70 horas de cocultivo, el sobrenadante se recolectó y se analizó mediante ELISA de acuerdo con las direcciones proporcionadas con el kit

10 de ELISA (Human IFN- γ ELISA MAX™ Deluxe, BioLegend, cat. núm. 430106). Ocurre la producción de IFN- γ de células CAR-T estimuladas con antígeno. Las células CAR de hK2 y CAR-T de control secretaron el IFN- γ durante el cocultivo con células que expresan hK2 de una manera dependiente de una relación E:T, pero no durante el cocultivo con las células de hK2 negativa. El CAR de control

15 no descrito secretó una cantidad mucho mayor de IFN- γ debido al nivel de expresión de antígeno mucho mayor que hK2.

Ejemplo 21: Destrucción de células tumorales mediante células CAR-T de hK2

20 Las células CAR-T de hK2 se evalúan en el ensayo de destrucción tumoral IncuCyte en tiempo real para la citotoxicidad dependiente del antígeno. Las células CAR-T de hK2 se coincubaron con células diana durante 88 horas en una relación efectora:diana de 1:1 o 0,5:1 que se calculó basada en los datos de

expresión de CAR. Se identifican las células diana que expresan establemente un tinte nuclear rojo que se midió mediante el sistema de imagenología IncuCyte de una manera en tiempo real. Se realiza el siguiente cálculo: Inhibición del crecimiento de células tumorales (%) = (número inicial de células diana viables-
 5 número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%).

Ejemplo 22: Producción de citocinas mediante células CAR-T de hK2

El sobrenadante se recolecta del cocultivo de la noche (aproximadamente 20 horas) de células CAR-T de hK2 con células en una relación 1:1 de E/T se
 10 analizó usando el kit de células T de alta sensibilidad humanas 13-plex Milliplex (HSTCMAG28SPMX13). Las células T modificadas con el CAR de hK2 secretaron citocinas durante el cocultivo con células que expresan hK2, pero en un nivel mínimo para las células T no transducidas (UTD). Los resultados de liberación de citocinas mediante células CAR-T de hK2.

15 El sobrenadante se recolectó del cocultivo de la noche (aproximadamente 20 horas) de células CAR-T de hK2 con células en una relación 1:1 de E/T. Las células CAR-T de hK2 secretaron IFN- γ durante el cocultivo con células que expresan hK2, pero no durante el cocultivo con células de hK2 negativa. Las microesferas CD3/28 estimularon las células T y las células T solo se usaron como controles positivos y
 20 negativos, respectivamente. La liberación de IFN- γ mediante las células CAR-T de hK2. Se muestra la concentración media de IFN- γ $\pm$ SD (pg/ml) de cultivos duplicados. Diferentes células CAR-T estabilizadas térmicamente produjeron diferente cantidad de IFN- γ cuando se cocultivan con células de hK2 (+).

Ejemplo 23: Proliferación de células CAR-T de hK2

Las células CAR-T de hK2 se evaluaron en un ensayo de proliferación. La proliferación de células T es un parámetro *in vitro* importante de la función inmunitaria *in vivo*. Para evaluar además la función de las células CAR-T de hK2, las células

5 CAR-T de hK2 se etiquetan con CTV para evaluar la proliferación de células T. Las células T no transducidas (UTD) y CAR-T de hK2 se etiquetaron con CellTrace Violet (CTV; 5 μ M) y se cocultivaron con células de hK2(+) y de hK2(-). Cinco días después del cocultivo, las células se cosechan y tiñen con CD3, CD25, tinte casi IR live/dead y CAR de hK2. El análisis citométrico de flujo se realiza en

10 un citómetro de flujo Fortessa con el software Flowjo. Los linfocitos se identifican mediante CD3 vivas, y se determinan las frecuencias de células CAR- T con dilución de tinte CTV y marcador de activación CD25. Mediante la selección de células CAR+ T de hK2, como se muestra, las células hK2 (+) y no las células hK2 (-) promueven todos los constructos de CAR. Las microesferas CD3/28

15 estimularon las células T y las células T solo se usan como controles positivos y negativos, respectivamente. Las células T solas sin ninguna estimulación no proliferan y las células T estimuladas con microesferas CD3/28 mostraron un patrón de proliferación equivalente. Las células CAR-T de hK2 proliferaron con mayor robustez que el control positivo de microesferas CD3/28 después de 5 días

20 de cocultivo con células. Las células T diseñadas por ingeniería de los constructos de CAR diferentes tienen una actividad de proliferación diferente y mostraron conteos de células CAR-T diferentes. Los conteos de células CAR-T se basaron en el conteo celular medio absoluto +/- SEM de tres replicaciones técnicas.

El protocolo se realiza de la siguiente manera. Las células tumorales se recolectan, se lavan dos veces con PBS, y se resuspenden en $10E6/ml$ en PBS que contiene 100 ug/ml de mitomicina C (MMC) durante 1,5 horas en una incubadora a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ para bloquear la proliferación de células tumorales. $20\text{ }\mu\text{l}$ de

5 DMSO se añade a un vial de solución de tinción de CTV. $5\text{ }\mu\text{l}$ de la solución se diluyó en 5 ml de PBS (1:1000) (se calentó a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$) para proporcionar una solución de tinción de $5\text{ }\mu\text{M}$. Las células T $2E6$ se recolectan, se lavan con PBS dos veces y se resuspenden en $4E6/ml$ ($0,5\text{ ml}$). Se añade un volumen igual ($0,5\text{ ml}$) de solución de tinción de CTV. Las células se incuban durante 20 minutos

10 a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Después, 4 ml de PRMI + 20 % de FBS se añaden a las células para absorber cualquier tinte sin fijar. Las células se incuban durante 5 minutos y se centrifugan durante 5 minutos en $400\times g$. El gránulo celular se resuspende en el medio RPMI + 10 % de FBS precalentado. Las células T se cuentan y las células $1E5$ ($100\text{ }\mu\text{l}$) se siembran en una placa de fondo plano de 96 pocillos.

15 Mientras tanto, las células tumorales tratadas con MMC se recolectan y se cuentan después de 1,5 horas y, después, se resuspenden en $1E6/ml$. $1E5$ de las células ($100\text{ }\mu\text{l}$) se cocultivan con células T en una placa de 96 pocillos. Las células T solas y las células T añadidas en una relación microesferas CD3/28 a células 3:1 se usan como controles negativo y positivo, respectivamente.

20 Después de 5 días de cocultivo, todas las células se recolectan de cada pocillo. Las células se centrifugan y se lavan durante 5 minutos en $400\times g$ dos veces, y se tiñen con CAR de hK2, CD3, CD8 y CD25, live/dead (casi IR) en la placa de fondo en U de 96 pocillos. Después del lavado, todas las células se fijan durante 10

minutos usando 100 µl de regulador de fijación BD Cytotfix™ (50 ul de regulador FACS + 50 ul de regulador de fijación). Las muestras teñidas se analizan mediante citometría de flujo multicolor después del final del período de incubación.

El análisis de datos se realiza de la siguiente manera. Se prepara un histograma de CTV. La selección no diluida de CVT se fija para abarcar el pico de extremo derecho (CTV brillante) de las células T cultivadas solas y la selección diluida de CTV para capturar el resto de la población. Esto se aplica a todas las muestras.

Ejemplo 24: Caracterización de células CAR-T transducidas con varios

10 constructos descritos en la presente descripción.

Las células CAR-T generadas se evalúan en el ensayo reportero de JNL para la actividad dependiente del antígeno. Brevemente, las células Jurkat que contienen el gen de luciferasa impulsado por el promotor de NFAT sensible a la señalización (denominadas células JNL) se transdujeron con cualquier

15 constructo que comprende una o más secuencias de ácido nucleico de las sec. con núms. de ident.: 153-160, 161-168, 195-204, 320-325, 326-331 y 336-339. Alternativamente, el constructo puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica:

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena

pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm.
de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena
5 pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm.
de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena
pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm.
10 de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena
pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm.
de ident.: 6;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena
pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm.
de ident.: 4;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de
20 aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena
pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm.
de ident.: 6;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 3 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 5;

20 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 74 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 76;

 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región

variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 77;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 147 y una región

5 variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región

10 variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 141;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 75 y una región

variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 140;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 148 y una región

variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 142;

una región variable de cadena ligera que comprende una

20 secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 149 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de

aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 143;

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 150 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 144;

5 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 151 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 145;

10 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 152 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 146;

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 318 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 317.

La expresión de cada CAR se determina mediante la hK2 biotinilada seguida de PE conjugada con estreptavidina.

20 La unión entre el constructo de CAR de hK2 y su antígeno celular cognado (hK2 en células diana) conduce a la expresión de la luciferasa en las células JNL. Para ello, las células JNL transducidas con los constructos de CAR de prueba o las células JNL no transducidas (UTD) se cocultivan con líneas de células tumorales diana y la actividad de la luciferasa se midió como intensidad de luminiscencia. Los

constructos se consideran activos cuando la intensidad de luminiscencia excedía 1,5 veces el nivel de células UTD en presencia de células que expresan antígenos.

Las células CAR-T median la destrucción de células tumorales de manera

5 dependiente del antígeno

Las células CAR-T se transducen con CAR17, CAR18, CAR19 y CAR20 y se coincuban con células de hK2 positiva y células de hK2 negativa durante 96 horas en una relación efectora a diana (ET) de 1:1 o 0,5:1 que se calculó basada en la expresión de CAR en células T. Las células diana expresan establemente
 10 un tinte nuclear rojo que se mide mediante el sistema de imagenología IncuCyte de una manera en tiempo real. Inhibición del crecimiento de células tumorales (TGI) (%) = (número inicial de células diana viables-número actual de células diana viables)/número inicial de células viables*100 (%). Las células CAR-T
 15 evaluadas pueden lograr aproximadamente 100 % de TGI mientras que el control no transducido puede no mostrar ningún TGI. No puede observarse TGI con las células CAR-T evaluadas en células de hK2 negativa.

Las células CAR-T producen citocinas tras la estimulación del antígeno

El IFN- γ producido por células T citotóxicas es esencial para ejercer la vigilancia
 20 inmunitaria de los tumores, que puede inhibir directamente la proliferación e inducir la apoptosis de algunas malignidades *in vivo* e *in vitro*. Para determinar si las células T humanas modificadas con CAR de hK2 pueden reconocerse y activarse mediante las células tumorales de hK2 positiva, las células T primarias se transducen con los

clones de CAR indicados y controlar las células T no transducidas (UTD) se cocultivaron con líneas de células diana y se recolectó sobrenadante para la medición de la concentración de IFN- γ . Las células CAR-T transducidas con células de CAR de hK2 secretan IFN- γ durante el cocultivo con células LNCaP que expresan de manera recombinante las células de hK2 y también durante el cocultivo con células que expresan hK2 muy baja pero no células de hK2 negativa.

Las células CAR-T se activan y regulan en ascenso los marcadores de desgranulación de manera dependiente del antígeno

- 10 Las células tumorales pueden reconocerse y destruirse mediante linfocitos citotóxicos, tales como linfocitos T CD8+ y células destructoras naturales (NK), principalmente a través de la secreción inmunitaria de gránulos líticos que destruyen las células tumorales diana. Este proceso implica la fusión de la membrana granulada con la membrana citoplasmática de la célula efectora
- 15 inmunitaria, lo que resulta en la exposición a la superficie de proteínas asociadas con lisosomas que típicamente están presentes en los gránulos líticos que rodean la bicapa lipídica, tales como CD107a. Por lo tanto, la expresión de la membrana de CD107a constituye un marcador de la activación de células inmunitarias y la desgranulación citotóxica.
- 20 El ensayo de desgranulación se realiza como se describe más abajo. Las células diana (5×10^4) se cocultivan con un número igual de células efectoras en 0,1 ml por pocillo en una placa de 96 pocillos. Los pocillos de control contenían células T solas. Se añade anti-CD107a (5 μ l por pocillo) además de

1 μ l/muestra de monensina (BD Biosciences) y se incubaba durante 4 horas a 37 °C. Las células se lavan dos veces con PBS, se tiñen para la expresión del CAR de hK2, CD3 y CD8 y se analizan en un citómetro de flujo BD Fortessa.

5 **Las células CAR-T de hK2 proliferan de manera dependiente del antígeno**

Las células CAR-T se evalúan para su proliferación usando el protocolo de ensayo de proliferación de células T descrito en el Ejemplo 23. Las células T no transducidas (UTD) y CAR-T de hK2 se etiquetan con CellTrace Violet (CTV; 5 μ M) y se cocultivan con células de hK2 positiva y de hK2 negativa. Cinco días después del cocultivo, las
10 células se cosechan y tiñen con CD3, CD25, tinte casi IR live/dead y CAR de hK2. El análisis citométrico de flujo se realiza en un citómetro de flujo Fortessa con el software Flowjo. Los linfocitos se identifican mediante CD3 vivas, y se determinaron las frecuencias de células CAR-T con dilución de tinte CTV y marcador de activación CD25. El porcentaje de células T en proliferación y células T que expresan CD25 se
15 basa en el conteo celular medio absoluto +/- SEM por duplicado.

Los fundamentos de todas las patentes, solicitudes publicadas y referencias citadas en la presente descripción, se incorporan en su totalidad como referencia. Si bien las modalidades ilustrativas se han mostrado y descrito particularmente,
20 los expertos en la técnica entenderán que pueden hacerse varios cambios en la forma y los detalles de ellas sin apartarse del alcance de las modalidades abarcadas por las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

Sec. con núm. de ident.: 1 - VL 1 (LCD6)

5 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAAS
NRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 2 - VL 2 (LCHumanized)

10 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAAS
NRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 3 - VL 3 (LCB7)

15 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAAS
NRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 4 - VH 1 (HCG5)

20 QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYIS
YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
GQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 5 - VH 2 (HCHumanized)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQPPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 5 GQGLTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 6 - VH 3 (HCF3)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISY
 10 SGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGGLTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 7 - Secuencia enlazadora

15 GGSEKSSGSGSESKSTGGS

Sec. con núm. de ident.: 8- scFv 1 (HL HCG5 LCD6 20AA)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWMGYIS
 20 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 GQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 9- scFv 2 (HL HCG5 LCHumanized 20AA)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQFPGKGLEWMGYIS
 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 5 GQGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 10- scFv 3 (HL HCF3 LCB7 20AA)

10

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQFPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT
 15 ISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 11- scFv 4 (HL HCG5 LCB7 20AA)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQFPGKGLEWMGYIS
 20 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 GQGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 12- scFv 5 (LH LCD6 HCG5 20AA)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISQVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTK
 5 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKL
 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSS

Sec. con núm. de ident.: 13- scFv 6 (LH LCHumanized HCF3 20AA)

10

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 15 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSS

Sec. con núm. de ident.: 14- scFv 7 (LH LCHumanized HCG5 20AA)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 20 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKL
 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSS

Sec. con núm. de ident.: 15- scFv 8 (LH LCB7 HCF3 20AA)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 5 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 16- scFv 9 (LH LCB7 HCG5 20AA)

10

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKL
 15 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 17- scFv 10 (LH LCD6 HCF3 20AA)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 20 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 18- scFv 11 (HL HCHumanized LCB7 20AA)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQPPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKS RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGY YYGSGFW
 5 GQGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 19- scFv 12 (HL HCHumanized LCD6 20AA)

10

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQPPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKS RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGY YYGSGFW
 GQGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 15 TIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 20- scFv 13 (HL HCHumanized LCHumanized 20AA)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWI RQPPGKGLEWIGYISY
 20 SGSTTYNPSLKS RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGY YYGSGFW
 GQGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 21- scFv 14 (LH LCD6 HCHumanized 20AA)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTK
 5 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKL
 SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 22- scFv 15 (LH LCHumanized HCHumanized 20AA)

10

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKL
 15 SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 23- scFv 16 (LH LCB7 HCHumanized 20AA)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 20 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKL
 SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTV

Sec. con núm. de ident.: 24 - Secuencia señal

MAVWVTLLFLMAAAQSIQA

5 Sec. con núm. de ident.: 25-CD8a-bisagra

TSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

Sec. con núm. de ident.: 26 - CD8a-TM

10

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

Sec. con núm. de ident.: 27 - CD137

15 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL

Sec. con núm. de ident.: 28 - CD3zeta

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK

20 NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL

HMQUALPPR

Sec. con núm. de ident.: 29 - Dominio de unión al antígeno 1 extracelular**(LH HCG5 LCD6 20AA)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYIS
 5 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 GQGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHYQYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

10 Sec. con núm. de ident.: 30 - Dominio de unión al antígeno 2 extracelular**(HL HCG5 LCHumanized 20AA)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYIS
 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 15 GQGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHYQYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 31 - Dominio de unión al antígeno 3 extracelular**20 (HL HCF3 LCB7 20AA)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWG

QGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT
 ISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

5 **Sec. con núm. de ident.: 32 - Dominio de unión al antígeno 4 extracelular**
(HL HCG5 LCB7 20AA)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYIS
 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 10 QGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 33 - Dominio de unión al antígeno 5 extracelular
 15 **(LH LCD6 HCG5 20AA)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 20 SDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKL
 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGT LVT VSS

Sec. con núm. de ident.: 34 - Dominio de unión al antígeno 6 extracelular**(LH LCHumanized HCF3 20AA)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 5 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPKGKLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

10 Sec. con núm. de ident.: 35 - Dominio de unión al antígeno 7 extracelular**(LH LCHumanized HCG5 20AA)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 15 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPKGKLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKL
 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 36 - Dominio de unión al antígeno 8 extracelular**20 (LH LCB7 HCF3 20AA)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK

LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

5 **Sec. con núm. de ident.: 37 - Dominio de unión al antígeno 9 extracelular**
(LH LCB7 HCG5 20AA)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 10 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKL
 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 38 - Dominio de unión al antígeno 10 extracelular
 15 **(LH LCD6 HCF3 20AA)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 20 SDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 39 - Dominio de unión al antígeno 11 extracelular**(HL HCHumanized LCB7 20AA)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISY
 5 SGSTTYNPSLKSRTVMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 GQGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHYQYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSVQAEDVAVYYCQYTRKVPYTFGQGTKLEIK

10 Sec. con núm. de ident.: 40 - Dominio de unión al antígeno 12 extracelular**(HL HCHumanized LCD6 20AA)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTVMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 15 GQGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHYQYQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TIQSVQAEDVSVYFCQYTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 41 - Dominio de unión al antígeno 13 extracelular**20 (HL HCHumanized LCHumanized 20AA)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTVMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFW

GQGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

5 **Sec. con núm. de ident.: 42 - Dominio de unión al antígeno 14 extracelular**
(LH LCD6 HCHumanized 20AA)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTK
 10 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWN WIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKL
 SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGT LVT VSS

Sec. con núm. de ident.: 43 - Dominio de unión al antígeno 15 extracelular
 15 **(LH LCHumanized HCHumanized 20AA)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 20 SDYAWN WIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKL
 SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGT LVT VSS

Sec. con núm. de ident.: 44 - Dominio de unión al antígeno 16 extracelular**(LH LCB7 HCHumanized 20AA)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 5 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKL
 SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTV

10 Sec. con núm. de ident.: 45 - Dominio de señalización intracelular:

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP
 AYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
 QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

15

Sec. con núm. de ident.: 46 - CAR 1 (HL HCG5 LCD6 20AA; pDR000083431)

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQPPGKGLEWMGYIS
 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 20 GQGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL

LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

5 **Sec. con núm. de ident.: 47 - CAR 2 (HL HCG5 LCHumanized 20AA;
 pDR000083432)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWMGYIS
 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 10 GQGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVDPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 15 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 48 - CAR 3 (HL HCF3 LCB7 20AA; pDR000083436)

20 QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLT

ISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSL
 RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL
 YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 5 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 49 - CAR 4 (HL HCG5 LCB7 20AA; pDR000083437)

QVQLQESGPGGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYIS
 10 YSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 GQGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 15 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 50 - CAR 5 (LH LCD6 HCG5 20AA; pDR000083438)

20

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT

SDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKL
 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPL
 SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK
 LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ
 5 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
 AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 51 - CAR 6 (LH LCHumanized HCF3 20AA;

pDR000083440)

10

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLS
 15 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

20

Sec. con núm. de ident.: 52 - CAR 7 (LH LCHumanized HCG5 20AA;

pDR000083441)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKL
 5 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLVTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPL
 SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK
 LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
 AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

Sec. con núm. de ident.: 53 - CAR 8 (LH LCB7 HCF3 20AA; pDR000083443)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 15 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLVTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 20 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 54 - CAR 9 (LH LCB7 HCG5 20AA; pDR000083444)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKL
 5 SSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPL
 SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK
 LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
 AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

Sec. con núm. de ident.: 55 - CAR 10 (LH LCD6 HCF3 20AA; pDR000083446)

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGK
 15 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 20 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

**Sec. con núm. de ident.: 56 - CAR 11 (HL HCHumanized LCB7 20AA;
pDR000083433)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQPPGKGLEWIGYISY
 5 SGSTTYNPSLKSRTVMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 GQGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TISSVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 10 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 57 - CAR 12 (HL HCHumanized LCD6 20AA;

15 **pDR000083434)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQPPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTVMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 GQGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
 20 ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
 TIQSVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN

QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 58 - CAR 13

5 **(HL HCHumanized LCHumanized 20AA; pDR000083435)**

QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISY
SGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFW
GQGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCK
10 ASESVEYFGTSLMHYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTL
TISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
15 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 59 - CAR 14 (LH LCD6 HCHumanized 20AA;

pDR000083439)

20 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHYQQKPGQPPKLLIYA
ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISQVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTK
LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
SDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFSLKL

SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPL
 SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK
 LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
 5 AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 60 - CAR 15

(LH LCHumanized HCHumanized 20AA; pDR000083442)

10 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKL
 SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPL
 15 SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK
 LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
 AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

20 **Sec. con núm. de ident.: 61 - CAR 16 (LH LCB7 HCHumanized 20AA;
 pDR000083445)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGK
 LEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSIT
 SDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKL
 5 SSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPL
 SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK
 LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAE
 AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

Sec. con núm. de ident.: 62 - secuencia de calicreína humana-2 (secuencia

señal: aminoácidos 1-18)

MWDLVLSIALSVGCTGAVPLIQSRIVGGWECEKHSQPWQVAVYSHGWAHCGG
 15 VLVHPQWVLTAAHCLKKNSQVWLGRHNLFEPEDTGQRPVSHSFPHPLYNMS
 LLKHQSLRPDEDSSHDLMLLRLSEPAKITDVVKVLGLPTQEPALGTTTCYASGWG
 SIEPEEFLRPRSLQCVSLHLLSNDM CARAYSEKVTEFMLCAGLWTGGKDTCCG
 DSGGPLVCNGVLQGITSWGPEPCALPEKPAVYTKVVHYRKWIKDTIAANP

20 **Sec. con núm. de ident.: 63 – secuencia de CDR1 de cadena pesada**

SDYAWN

Sec. con núm. de ident.: 64 – secuencia de CDR2 de cadena pesada

YISYSGSTTYSPSLKS

5 **Sec. con núm. de ident.: 65 – secuencia de CDR2 de cadena pesada**

YISYSGSTTYNPSLKS

Sec. con núm. de ident.: 66 – secuencia de CDR3 de cadena pesada

10

GYYYGSGF

Sec. con núm. de ident.: 67 – secuencia de CDR1 de cadena ligera

15 RASESVEYFGTSLMH

Sec. con núm. de ident.: 68 – secuencia de CDR1 de cadena ligera

KASESVEYFGTSLMH

20

Sec. con núm. de ident.: 69 – secuencia de CDR2 de cadena ligera

AASNVES

Sec. con núm. de ident.: 70 – secuencia de CDR2 de cadena ligera

AASNRES

5 Sec. con núm. de ident.: 71 – secuencia de CDR3 de cadena ligera

QQTRKVPYT

Sec. con núm. de ident.: 72 – secuencia de CDR1 de cadena pesada

10

GNSITSDYAWN

Sec. con núm. de ident.: 73 – secuencia de CDR1 de cadena pesada

15 YISYSGSTT

Sec. con núm. de ident.: 74 – VL 4 (KL2B413)

EIVLTQSPSFLSASVGDRVITICRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQ

20 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 75 – VL 5 (KL2B359)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAAS
 NVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 76 - VH 4 (KL2B413)

5

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIK
 QDGSERYYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQNYDIL
 TGHYGMVDVWGQGTTVTVSS

10 **Sec. con núm. de ident.: 77 - VH 5 (KL2B359)**

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWRQFPGRLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGTLVTVSS

15

**Sec. con núm. de ident.: 78 - Dominio de unión al antígeno 17 extracelular
 (KL2B413 HL)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIK
 20 QDGSERYYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQNYDIL
 TGHYGMVDVWGQGTTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPSFLSA
 SVGDRVITICRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQSGVPSRFSGSGS
 GTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPRTFGQGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 79 - Dominio de unión al antígeno 18 extracelular**(KL2B413 LH)**

EIVLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQ
 5 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPRTFGQGTKVEIKGG
 SEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWM
 TWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSERYYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLR
 AEDTAVYYCARDQNYDILTGHYGMVDVWGQGTTVTVSS

10 Sec. con núm. de ident.: 80 - Dominio de unión al antígeno 19 extracelular**(KL2B359-HL)**

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWRQFPGKRLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTVTSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 15 QGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTI
 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 81 - Dominio de unión al antígeno 20 extracelular**20 (KL2B359-LH)**

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIIYA
 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKTV

EIKGGSEKSSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPQKRLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLTVSS

5 **Sec. con núm. de ident.: 82 - CAR 17 (KL2B413 HL; pBD000091628)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIK
 QDGSERYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQNYDIL
 TGHYGMVDVWGQGTTVTVSSGGSEKSSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPSFLSA
 10 SVGDRVITICRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQSGVPSRFSGSGS
 GTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPRTFGQGTKVEIKTSTPAPRPPTPPTI
 ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK
 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
 YKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 15 KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 83 - CAR 18 (KL2B413 LH; pBD000091623)

EIVLTQSPSFLSASVGDRVITICRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQ
 20 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPRTFGQGTKVEIKGG
 SEGKSSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWM
 TWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSERYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLR
 AEDTAVYYCARDQNYDILTGHYGMVDVWGQGTTVTVSSTSTPAPRPPTPAPTIA

SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR
 GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY
 KQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK
 DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

5

Sec. con núm. de ident.: 84 - CAR 19 (KL2B359-HL; pBD000091576)

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKRLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 10 QGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTI
 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY
 IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ
 15 LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY
 SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 85 - CAR 20 (KL2B359-LH; pBD000091577)

20 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYA
 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKV
 EIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKRLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLS

SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
5 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 86 – secuencia de CDR1 de cadena pesada

GFTFSSYW
10

Sec. con núm. de ident.: 87 – secuencia de CDR2 de cadena pesada

IKQDGSER
15

Sec. con núm. de ident.: 88 – secuencia de CDR3 de cadena pesada

ARDQNYDILTGHYGM DV

Sec. con núm. de ident.: 89 – secuencia de CDR1 de cadena ligera

QGISSY
20

Sec. con núm. de ident.: 90 – secuencia de CDR2 de cadena ligera

ATS

Sec. con núm. de ident.: 91 – secuencia de CDR3 de cadena ligera

5 QQLNSYPRT

Sec. con núm. de ident.: 92 – secuencia de CDR1 de cadena pesada

GNSITSDYA

10

Sec. con núm. de ident.: 93 – secuencia de CDR2 de cadena pesada

ISYSGST

15 **Sec. con núm. de ident.: 94 – secuencia de CDR3 de cadena pesada**

ATGYYYGSGF

Sec. con núm. de ident.: 95 – secuencia de CDR1 de cadena ligera

20

ESVEYFGTSL

Sec. con núm. de ident.: 96 – secuencia de CDR2 de cadena ligera

AAS

Sec. con núm. de ident.: 97 – secuencia de CDR3 de cadena ligera

5 GGNNIGSKSVH

Sec. con núm. de ident.: 98 - secuencia enlazadora

GTSGSSGSGSGGSGSGGGG

10

Sec. con núm. de ident.: 99 - secuencia enlazadora

GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS

15 **Sec. con núm. de ident.: 100 - secuencia de CDR2 de cadena pesada**

YISYSGSTTYNPSLKS

Sec. con núm. de ident.: 101 - secuencia de CDR1 de cadena pesada

20

GNSITSDYAWN

Sec. con núm. de ident.: 102 - secuencia de CDR1 de cadena pesada

SYWWS

Sec. con núm. de ident.: 103 - secuencia de CDR2 de cadena pesada

5 YIYSGSTNYPNPSLKS

Sec. con núm. de ident.: 104 - secuencia de CDR3 de cadena pesada

TTIFGVVTPNFYYGMDV

10

Sec. con núm. de ident.: 105 - secuencia de CDR1 de cadena pesada

GGSISSYYWS

15 **Sec. con núm. de ident.: 106 - secuencia de CDR2 de cadena pesada**

YIYSGSTN

Sec. con núm. de ident.: 107 - secuencia de CDR1 de cadena pesada

20

SYDIH

Sec. con núm. de ident.: 108 - secuencia de CDR2 de cadena pesada

IISYDGSKKDYTDSVKG

Sec. con núm. de ident.: 109 - secuencia de CDR3 de cadena pesada

5 ESGWSHYYYYGMDV

Sec. con núm. de ident.: 110 - secuencia de CDR1 de cadena pesada

GFTFSSYDIH

10

Sec. con núm. de ident.: 111 - secuencia de CDR2 de cadena pesada

IISYDGSKKD

15 **Sec. con núm. de ident.: 112 - secuencia de CDR2 de cadena pesada**

RLYVSGFTNYPNPSLKS

Sec. con núm. de ident.: 113 - secuencia de CDR3 de cadena pesada

20

DSGNYWGWFDLP

Sec. con núm. de ident.: 114 - secuencia de CDR2 de cadena pesada

RLYVSGFTN

Sec. con núm. de ident.: 115 - secuencia de CDR1 de cadena pesada

5 YYGMH

Sec. con núm. de ident.: 116 - secuencia de CDR2 de cadena pesada

FISYDGSNKYYADSVKG

10

Sec. con núm. de ident.: 117 - secuencia de CDR3 de cadena pesada

LPYSGSYWAFDY

15 **Sec. con núm. de ident.: 118 - secuencia de CDR1 de cadena pesada**

GFTFSYY

Sec. con núm. de ident.: 119 - secuencia de CDR2 de cadena pesada

20

FISYDGSNKY

Sec. con núm. de ident.: 120 - secuencia de CDR1 de cadena pesada

HYAMS

Sec. con núm. de ident.: 121 - secuencia de CDR2 de cadena pesada

5 TIGGSGGSTYYADSVKG

Sec. con núm. de ident.: 122 - secuencia de CDR3 de cadena pesada

PHIVMVTALLYDGMDV

10

Sec. con núm. de ident.: 123 - secuencia de CDR1 de cadena pesada

GFTFSHYAMS

15 **Sec. con núm. de ident.: 124 - secuencia de CDR3 de cadena pesada**

TIGGSGGSTYY

Sec. con núm. de ident.: 125 - secuencia de CDR1 de cadena ligera

20

RASQDISNYLA

Sec. con núm. de ident.: 126 - secuencia de CDR2 de cadena ligera

AASNVES

Sec. con núm. de ident.: 127 - secuencia de CDR3 de cadena ligera

5 DDSDRPS

Sec. con núm. de ident.: 128 - secuencia de CDR1 de cadena ligera

RASQGISSYLA

10

Sec. con núm. de ident.: 129 - secuencia de CDR2 de cadena ligera

AASTLQS

15 **Sec. con núm. de ident.: 130 - secuencia de CDR3 de cadena ligera**

QQLNSYPLT

Sec. con núm. de ident.: 131 - secuencia de CDR2 de cadena ligera

20

AASTLHS

Sec. con núm. de ident.: 132 - secuencia de CDR3 de cadena ligera

QKYNSAPYT

Sec. con núm. de ident.: 133 - secuencia de CDR1 de cadena ligera

5 SGDQLGENYAC

Sec. con núm. de ident.: 134 - secuencia de CDR2 de cadena ligera

QDSKRPS

10

Sec. con núm. de ident.: 135 - secuencia de CDR3 de cadena ligera

QAWDNSIVV

15 **Sec. con núm. de ident.: 136 - secuencia de CDR1 de cadena ligera**

GGGNIGSSVH

Sec. con núm. de ident.: 137 - secuencia de CDR2 de cadena ligera

20

DNSDRPS

Sec. con núm. de ident.: 138 - secuencia de CDR3 de cadena ligera

QVWDSSSDHPVV

Sec. con núm. de ident.: 139 - secuencia de CDR3 de cadena ligera

5 QVWDSSSDHVV

Sec. con núm. de ident.: 140 – VH (KL2B357, KL2B357 y KL2B360))

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISY
10 SGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
QGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 142 – VH (KL2B30)

15 QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYY
GSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFY
YGMDVWGQGTTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 143 – VH (KL2B53)

20 EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAIISY
DGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVED SAVYSCARESGWSHY
YYYGMDVWGQGTMTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 144 – VH (KL2B242)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYV
 SGFTNYNPSLKSRLVTLSDPSRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWF
 5 DPWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 145 – VH (KL2B467)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIS
 10 YDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSY
 WAFDYWGQGTQVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 146 – VH (KL2B494)

15 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIG
 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMVT
 LLYDGMDVWGQGTMTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 147 – VL (KL2B357)

20 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAAS
 NVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 148 – VL (KL2B30)

DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK

5

Sec. con núm. de ident.: 149 – VL (KL2B53)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASLT
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPYTFGQGTREIK

10

Sec. con núm. de ident.: 150 – VL (KL2B242)

SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKR
PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVL

15

Sec. con núm. de ident.: 151 – VL (KL2B467)

QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDRP
SGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSDHPVVFGGGTKVTV

20

Sec. con núm. de ident.: 152 – VL (KL2B494)

SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRP
SGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL

Sec. con núm. de ident.: 153 – VH (KL2B357)

5

CAGG TTCAGCTGCAAGAGTCTGGACCAGGCCTGGTCAAGCCCTCTCAGACC
CTGTCTCTGACCTGTACCGTGTCCGGCAACTCCATCACCTCTGACTACGCCT
GGA ACTGGATTCGGCAGTTCCTGGCAAGGGCCTTGAGTGGATCGGCTACA
TCTCCTACTCCGGTTCCACCACCTACAACCCCAGCCTGAAGTCCCGGGTCA
10 CCATCTCCCGCGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCG
TGACCGCTGCTGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCACCGGCTACTACTACG
GCTCCGGCTTTTGGGGACAGGGCACACTGGTTACCGTGTCTAGT

Sec. con núm. de ident.: 154 – VH (KL2B358)

15

CAGG TTCAGCTGCAAGAGTCTGGACCAGGCCTGGTCAAGCCCTCTCAGACC
CTGTCTCTGACCTGTACCGTGTCCGGCAACTCCATCACCTCTGACTACGCCT
GGA ACTGGATTCGGCAGCCACCTGGCAAGGGCCTTGAGTGGATCGGCTAC
ATCTCCTACTCCGGTTCCACCACCTACAACCCCAGCCTGAAGTCCCGGGTC
20 ACCATCTCCCGCGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCC
GTGACCGCTGCTGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCACCGGCTACTACTAC
GGCTCCGGCTTTTGGGGACAGGGCACACTGGTTACCGTGTCTAGT

Sec. con núm. de ident.: 155 – VH (KL2B360)

CAGG TTCAGCTGCAAGAGTCTGGACCAGGCCTGGTCAAGCCCTCTCAGACC
CTGTCTCTGACCTGTACCGTGTCCGGCAACTCCATCACCTCTGACTACGCCT
5 GGA ACTGGATT CGGCAGTTCCCTGGCAAGGGCCTTGAGTGGATCGGCTACA
TCTCCTACTCCGGTTCCACCACCTACAACCCCAGCCTGAAGTCCCGGGTCA
CCATCTCCCGCGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCG
TGACCGCTGCTGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCACCGGCTACTACTACG
GCTCCGGCTTTTGGGGACAGGGCACACTGGTTACCGTGTCTAGT

10

Sec. con núm. de ident.: 156 – VH (KL2B30)

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGAC
CCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGG
15 AGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGATATAT
CTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCAC
CATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTG
ACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGGACTACGATTTTTGGA
GTGGTTACCCCCAACTTCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC
20 ACGGTCACCGTCTCCTCA

Sec. con núm. de ident.: 157 – VH (KL2B53)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC
CTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGTTATGACATACAC
TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATTTTCAT
ATGATGGAAGTAAAAAAGACTATACAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCT
5 CCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGGACAGCCTGAGAGTT
GAGGACTCGGCTGTGTATTCCTGTGCGAGAGAAAGTGGCTGGTCCCACTACTA
CTATTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

Sec. con núm. de ident.: 158 – VH (KL2B242)

10

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGAC
CCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTATTGG
AGCTGGCTCCGGCAGCCCGCCGGGTCGGGACTGGAGTGGATTGGGCGTTT
ATATGTCAGTGGGTTCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACC
15 TTGTCACTAGACCCGTCCAGGAACCAGTTGTCCCTGAACTGAGTTCTGTGA
CCGCCGCGGACACGGCCGTATATTATTGTGCGGGAGATAGTGGGAACTACT
GGGGTTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

Sec. con núm. de ident.: 159 – VH (KL2B467)

20

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC
CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTTACTATGGCATGCA
CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTATATCA

TATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCAT
CTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG
CTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCCCCACCTCCCTTATAGTGGGAGCTAC
TGGGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCAGGTCACCGTCTCTTCA

5

Sec. con núm. de ident.: 160 – VH (KL2B494)

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGTCATTATGCCATG
10 AGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAACTAT
TGGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC
CTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAACCTCATATTGTAA
TGGTGA CTGCTCTTCTCTACGACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACAA
15 TGGTCACCGTCTCCTCA

Sec. con núm. de ident.: 161 – VL (KL2B357)

GACATCGTGCTGACCCAGTCTCCAGACTCTCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAG
20 AGAGCCACCATCAACTGCAGAGCCTCCGAGTCCGTGGAATACTTCGGCACC
TCTCTGATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTG
ATCTACGCCGCCTCCAACGTGGAATCTGGCGTGCCCGATAGATTTTCCGGC
TCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACCATCAGCTCTCTGCAGGCCGAG

GATGTGGCCGTGTACTTCTGTCAGCAGACCCGGAAGGTGCCCTACACATT
GGCGGCGGAACAAAGGTGGAAATCAAG

Sec. con núm. de ident.: 162 – VL (KL2B358)

5

GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGCCACACTGTCACTGTCTCCAGGCGAG
AGAGCCACCCTCTCTTGTAGAGCCTCCGAGTCCGTGGAATACTTCGGCACC
TCTCTGATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCTAGACTGCTG
ATCTACGCCGCCTCCAACGTCTGAATCTGGCATCCCCGCTAGATTCTCCGGC
10 TCTGGCTCTGGCACAGACTTTACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAACCCGAG
GATTCGCTGTGTACTTTTGCCAGCAGACCCGGAAGGTGCCCTACACATTG
GCGGCGGAACAAAGGTGGAAATCAAG

Sec. con núm. de ident.: 163 – VL (KL2B360)

15

GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGCCACACTGTCACTGTCTCCAGGCGAG
AGAGCCACCCTCTCTTGTAGAGCCTCCGAGTCCGTGGAATACTTCGGCACC
TCTCTGATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCTAGACTGCTG
ATCTACGCCGCCTCCAACGTCTGAATCTGGCATCCCCGCTAGATTCTCCGGC
20 TCTGGCTCTGGCACAGACTTTACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAACCCGAG
GATTCGCTGTGTACTTTTGCCAGCAGACCCGGAAGGTGCCCTATACATTG
GCGGCGGAACAAAGGTGGAAATCAAG

Sec. con núm. de ident.: 164 – VL (KL2B30)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCTTCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA
GTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGGGCATTAGCAGTTATTTAGCCTGGTA
5 TCAGCAAAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGTTCCTGATCTATGCTGCATCCACTTT
GCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTGAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCA
CTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAAC
AGCTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

10 **Sec. con núm. de ident.: 165 – VL (KL2B53)**

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAG
AGTCACCATCACTTGCCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTA
TCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGTTCCTGATCTATGCTGCATCCACTTT
15 GCACTCTGGGGTCCCATCTCGGTTGAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA
CTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCAAA
AGTATAACAGTGCCCCGTACACTTTTGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

Sec. con núm. de ident.: 166 – VL (KL2B242)

20

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGAGAGACAGC
CAGCATCACCTGCTCTGGAGATCAATTGGGGGAAAATTATGCTTGCTGGTATCA
GCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCTGTGTTGGTCATCTATCAAGATAGTAAGCGGC

CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACT
CTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTCTGGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGC
GTGGGACAACAGTATTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA

5 **Sec. con núm. de ident.: 167 – VL (KL2B467)**

CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCCGGGCAGAC
GGCCAGTATTACCTGTGGGGGAGACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTG
GTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATAATAG
10 CGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAC
CACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACT
ATTACTGTCAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGATCATCCTGTGGTATTCGGCGG
AGGGACCAAGGTCACCGTCCTA

15 **Sec. con núm. de ident.: 168 – VL (KL2B494)**

TCTTCTGAGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACG
GCCAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGG
TACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGC
20 GACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAAC
ACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTA
TTACTGTCAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGATCATGTGGTATTCGGCGGAGG
GACCAAGCTGACCGTCCTA

Sec. con núm. de ident.: 169 – KL2B357 ScFv-HL

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 5 QGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTI
 SSLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 170 – KL2B357 ScFv-LH

10

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTK
 VEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSI
 TSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKL
 15 SSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 171 – KL2B358 ScFv-HL

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQPPGKGLEWIGYISY
 20 SGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTI
 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 172 – KL2B358 ScFv-LH

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIYA
 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKV
 5 EIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 SDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLTVSS

Sec. con núm. de ident.: 173 – KL2B360 ScFv-HL

10

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIRQFPKGKLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGTTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTI
 15 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 174 – KL2B360 ScFv-LH

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLIYA
 20 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKV
 EIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPKGKLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTTLTVSS

Sec. con núm. de ident.: 175 – KL2B30 ScFv-HL

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYY
 GSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFY
 5 YGMDVWGQGTTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSFLSASVG
 DRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTE
 FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 176 – KL2B30 ScFv-LH

10

DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQ
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIKGG
 SEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWS
 WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT
 15 AVYYCAGTTIFGVVTPNFYYGMDVWGQGTTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 177 – KL2B53 ScFv-HL

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAIISY
 20 DGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVEDSAVYSCARESGWSHYY
 YYGMDVWGQGTMTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPSSLSAS
 VGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASLTLSGVPSRFSGSGSG
 TDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYN SAPYTFGQGTRLEIK

Sec. con núm. de ident.: 178 – KL2B53 ScFv-LH

DIVMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASTLH
 SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPYTFGQGTRLEIKGG
 5 SEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIH
 WVRQAPGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSL RV
 EDSAVYSCARESGWSHYYYYGMDVWGQGTMTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 179 – KL2B242 ScFv-HL

10

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYV
 SGFTNYPNPSLKSRVTLSDPSRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWFF
 DPWGQGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSSYELTQPPSVSVSPGETASI
 TCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLT
 15 ISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVL

Sec. con núm. de ident.: 180 – KL2B242 ScFv-LH

SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKR
 20 PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLG
 GSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYW
 SWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRVTLSDPSRNQLSLKLSSVTAA
 DTA VYYCAGDSGNYWGWFFDPWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 181 – KL2B467 ScFv-HL

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIS
 YDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSY
 5 WAFDYWGQGTQVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQSVLTQPPSVSVAPG
 QTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDRPSGIPERFSGSNSGT
 TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKVTV

Sec. con núm. de ident.: 182 – KL2B467 ScFv-LH

10

QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDR
 PSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKV
 TVGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS
 YYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ
 15 MNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 183 – KL2B494 ScFv-HL

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIG
 20 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMVT
 ALLYDGMVWGQGTMTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSSSELTQPPSVSV
 APGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDSDRPSGIPERFSGSN
 SGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL

Sec. con núm. de ident.: 184 – KL2B494 ScFv-LH

SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDR
 PSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLT
 5 VLGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS
 HYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQGTMTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 185 – KL2B30 HC IgG4

10

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYY
 GSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFY
 YGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNV DHKPS
 15 NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
 DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVK
 GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF
 SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

20

Sec. con núm. de ident.: 186– KL2B30 LC IgG4

DIQMTQSPSFLSASVGDRVITICRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQ
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKEIKRT
 VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
 VTEQDSKDSSTYSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

Sec. con núm. de ident.: 187 – KL2B53 HC IgG4

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAIISY
 DGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVEDSAVYSCARES GWSHYY
 10 YYGMDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNV DHK
 PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
 15 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN
 VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

Sec. con núm. de ident.: 188 – KL2B53 LC IgG4

20 DIVMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAASLT
 SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYN SAPYTFGQGTRLEIKRT
 VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
 VTEQDSKDSSTYSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 189 – KL2B242 HC IgG4

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYV
 SGFTNYNPSLKSRVTLSLDPSRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWF
 5 DPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK
 VDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
 QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
 10 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS
 VMHEALHNHYTQKSLSLGLK

Sec. con núm. de ident.: 190 – KL2B242 LC IgG4

15 SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKR
 PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLG
 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVET
 TTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

20 Sec. con núm. de ident.: 191 – KL2B467 HC IgG4

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIS
 YDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSY

WAFDYWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
 VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
 VVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
 5 LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
 LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Sec. con núm. de ident.: 192 – KL2B467 LC IgG4

10

QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDR
 PSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGKVT
 VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV
 ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

15

Sec. con núm. de ident.: 193 – KL2B494 HC IgG4

20

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIG
 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMVTA
 LLYDGMDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
 PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
 TCVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD

WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
 CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5 **Sec. con núm. de ident.: 194 – KL2B494 LC IgG4**

SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDR
 PSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTV
 LGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE
 10 TTPPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Sec. con núm. de ident.: 195 - KL2B30 HC ADN

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCC
 15 TGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGGAGCT
 GGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGATATATCTATTAC
 AGTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGT
 AGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGG
 ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGGACTACGATTTTTGGAGTGGTTACCCCC
 20 AACTTCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC
 CTCAGCTTCCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGA
 GCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC
 CGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAC

ACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT
GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAAACCTTACACTTGCAACGTAGATC
ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCC
CCATGCCCACCATGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCC
5 TGTTCCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC
ACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACT
GGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA
GCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG
ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCG
10 TCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACA
GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC
CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG
AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA
CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGAT
15 GGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC
CACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA

Sec. con núm. de ident.: 196 - KL2B30 LC ADN

20 GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCTTCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACA
GAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGGGCATTAGCAGTTATTTAGCCT
GGTATCAGCAAAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGTTCCTGATCTATGCTGCATC
CACTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGAC

AGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTAT
TACTGTCAACAGCTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGG
TGGAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC
TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC
5 TTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC
CTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAC
AAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

10

Sec. con núm. de ident.: 197 - KL2B53 HC ADN

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC
CTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGTTATGACATACAC
15 TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATTTTCAT
ATGATGGAAGTAAAAAAGACTATACAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATC
TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGGACAGCCTGAGAGT
TGAGGACTCGGCTGTGTATTCCTGTGCGAGAGAAAGTGGCTGGTCCCACTAC
TACTATTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC
20 AGCTTCCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGC
ACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG
AACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT

GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAAACCTACACTTGCAACGTAGAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTC
 CCCCATGCCCACCATGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTT
 CCTGTTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG
 5 GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTC
 AACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG
 AGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCA
 CCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGC
 CTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAG
 10 AGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCA
 GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTG
 GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCC
 GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACA
 AGAGCAGATGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC
 15 TCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA

Sec. con núm. de ident.: 198 - KL2B53 LC ADN

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACA
 20 GAGTCACCATCACTTGCCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTG
 GTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGTTCCTAAGTTCCTGATCTATGCTGCATCC
 ACTTTGCACTCTGGGGTCCCATCTCGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACA
 GATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATT

ACTGTCAAAAGTATAACAGTGCCCCGTACACTTTTGGCCAAGGGACACGACT
GGAGATTAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCT
GATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT
5 CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC
TACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC
AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA
AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

10 **Sec. con núm. de ident.: 199 - KL2B242 HC ADN**

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACC
CTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTATTGGAG
CTGGCTCCGGCAGCCCGCCGGGTCGGGACTGGAGTGGATTGGGCGTTTATA
15 TGTCAGTGGGTTCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCTTGT
CACTAGACCCGTCCAGGAACCAAGTTGTCCCTGAAACTGAGTTCTGTGACCGC
CGCGGACACGGCCGTATATTATTGTGCGGGAGATAGTGGAAGTACTGGGGT
TGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTTCCA
CCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGA
20 GAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT
GACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG
CCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAAACCTACACTTGCAACGTAGATCACAAGC

CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATG
 CCCACCATGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTC
 CCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGT
 GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGT
 5 ACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC
 AGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGA
 CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCG
 TCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCAC
 AGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAG
 10 CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG
 GAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG
 GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCA
 GATGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA
 CAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAA

15

Sec. con núm. de ident.: 200 - KL2B242 LC ADN

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGAGAGACA
 GCCAGCATCACCTGCTCTGGAGATCAATTGGGGGAAAATTATGCTTGCTGG
 20 TATCAGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCTGTGTTGGTCATCTATCAAGATAGTA
 AGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACA
 CAGCCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTCTGGATGAGGCTGACTATT
 ACTGTCAGGCGTGGGACAACAGTATTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGC

TGACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCACCCAGTGTCACCTCTGTTCCCGC
CCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAA
GTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCAGC
CCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAAGCAACAAC
5 AAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAAGTC
CCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGA
AGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

Sec. con núm. de ident.: 201 - KL2B467 HC ADN

10

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCC
CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTTACTATGGCATGCA
CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTATATCA
TATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCAT
15 CTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAG
CTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCCACCTCCCTTATAGTGGGAGCTAC
TGGGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCAGGTCACCGTCTCTTCAGCCT
CCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTC
TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC
20 GGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT
CCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC
GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA

ACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCCGGGGGACCGTCA
 GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC
 TGAGGTCACATGCGTGGTGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG
 TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC
 5 GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCT
 GCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
 GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC
 GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA
 CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC
 10 GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCT
 CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
 ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
 GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

15 **Sec. con núm. de ident.: 202 - KL2B467 LC ADN**

CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCCGGGCAGAC
 GGCCAGTATTACCTGTGGGGGAGACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTG
 GTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATAATAG
 20 CGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAC
 CACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACT
 ATTACTGTCAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGATCATCCTGTGGTATTCGGCGG
 AGGGACCAAGGTCACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCACCCAGTGTCA

CTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGG
TGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGG
CCGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAA
CAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAG
5 CAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAG
CACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

Sec. con núm. de ident.: 203 - KL2B494 HC ADN

10 CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCC
CTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGTCATTATGCCATGAGC
TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAACTATTGGTG
GTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC
TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGC
15 CGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAACCTCATATTGTAATGGTGACTGC
TCTTCTCTACGACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCT
CCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAG
AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
CCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA
20 CACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG
TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA
CAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCCGGGGGACCG

TCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC
CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCA
AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG
CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCC
5 TGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA
GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC
GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA
CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCG
TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCC
10 CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA
AGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT
CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

Sec. con núm. de ident.: 204 - KL2B494 LC ADN

15 TCTTCTGAGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACG
GCCAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGG
TACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGC
GACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAAC
20 ACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTA
TTACTGTCAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGATCATGTGGTATTTCGGCGGAGG
GACCAAGCTGACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCACCCAGTGTCCTCT
GTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTG

TCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCCGA
 TAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAACAAA
 GCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGT
 GGAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACC
 5 GTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

Sec. con núm. de ident.: 205 – CAR (KL2B357 HL y KL2B357 LH)

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISY
 10 SGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTI
 SSLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY
 15 IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY
 SEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 207 – CAR (KL2B358 HL)

20

VQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYS
 GSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA

SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTI
 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY
 IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNNQ
 5 LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY
 SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 208 – CAR (KL2B358 LH)

10 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYA
 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKV
 EIKGGSEGKSSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 SDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLVTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 15 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

20 **Sec. con núm. de ident.: 209 – CAR (KL2B360 HL)**

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIRQFPKGKLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG

QGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTI
 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY
 5 IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY
 SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 210 – CAR (KL2B360 LH)

10

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYA
 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKV
 EIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLS
 15 SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGT LVTVSSTSTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

20

Sec. con núm. de ident.: 211 – CAR (KL2B30 HL)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYY
 GSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFY
 YGMDVWGQGTTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSFLSASVG
 DRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTE
 5 FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIKTSTPAPRPPTPAPTIASQP
 LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQG
 QNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM
 AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

Sec. con núm. de ident.: 212 – CAR (KL2B30 LH)

DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQ
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK GG
 15 SEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWS
 WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT
 AVYYCAGTTIFGVVTPNFYYGMDVWGQGTTVTVSSSTPAPRPPTPAPTIASQP
 LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQG
 20 QNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM
 AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 213 – CAR (KL2B53 HL)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAIISY
 DGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVED SAVYSCARESGWSHY
 YYYGMDVWGQGTMVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPSSLSA
 SVGDRVITITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAAS TLHSGVPSRFSGSGS
 5 GTDFTLTISLQPEDVATYYCQKYNSAPYTFGQGTRLEIKTSTPAPRPPTPAPTI
 ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK
 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKF SRSADAPA
 YKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

Sec. con núm. de ident.: 214 – CAR (KL2B53 LH)

DIVMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAAS TLH
 SGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDVATYYCQKYNSAPYTFGQGTRLEIKGG
 15 SEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIH
 WVRQAPGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRV
 ED SAVYSCARESGWSHYYYYGMDVWGQGTMVTVSSTSTPAPRPPTPAPT IAS
 QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG
 RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKF SRSADAPAYK
 20 QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD
 KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 215 – CAR (KL2B242 HL)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYV
 SGFTNYPNPSLKSRVTLSLDPSRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGW
 DPWGQGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSSYELTQPPSVSVSPGETASI
 TCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLT
 5 ISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLTSTPAPRPPTPAPTIASQPLSL
 RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL
 YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

Sec. con núm. de ident.: 216 – CAR (KL2B242 LH)

SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKR
 PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLG
 15 GSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYW
 SWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRVTLSLDPSRNQLSLKLSSVTA
 DAVYYCAGDSGNYWGWFDPWGQGTLVTVSSSTPAPRPPTPAPTIASQPLSL
 RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL
 YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN
 20 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 217 – CAR (KL2B467 HL)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIS
 YDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSY
 WAFDYWGQGTQVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQSVLTQPPSVSVAPG
 QTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDRPSGIPERFSGSNSGT
 5 TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKVTVTSTPAPRPPTPAP
 TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAP
 AYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
 QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

Sec. con núm. de ident.: 218 – CAR (KL2B467 LH)

QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDR
 PSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKV
 15 TVGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS
 YYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSSTSTPAPRPPTPAP
 TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAP
 20 AYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
 QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 219 – CAR (KL2B494 HL)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIG
 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMVT
 ALLYDGMDVWGQGTMVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSSSELTQPPSVSVA
 PGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNS
 5 GNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLTSTPAPRPPTPA
 PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLY
 CKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAP
 AYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

Sec. con núm. de ident.: 220 – CAR (KL2B494 LH)

SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDR
 PSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTV
 15 LGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHY
 AMSWVRQAPGKGLEWVSTIGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCAKPHIVMVTALLYDGMDVWGQGTMVTVSSTSTPAPRPPTPAPT
 IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK
 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAY
 20 KQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD
 KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Sec. con núm. de ident.: 221 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B357 HL)**

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISY
 5 SGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTI
 SSLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

10 Sec. con núm. de ident.: 222 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B357 LH)**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYA
 ASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTK
 15 VEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSI
 TSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKL
 SSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 223 – Dominio de unión al antígeno extracelular**20 (KL2B358 HL)**

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQPPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG

QGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLT
 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIK

5 **Sec. con núm. de ident.: 224 – Dominio de unión al antígeno extracelular**
(KL2B358 LH)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYA
 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKTV
 10 EIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 SDYAWN WIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGT LVT VSS

Sec. con núm. de ident.: 225 – Dominio de unión al antígeno extracelular

15 **(KL2B360 HL)**

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWN WIRQFP G KGLEWIGYISY
 SGSTTYPNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGT LVT VSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
 20 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLT
 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 226 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B360 LH)**

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYA
 5 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKV
 EIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 SDYAWNWIRQFPKGKLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSS

10 Sec. con núm. de ident.: 227 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B30 HL)**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPKGKLEWIGYIYYS
 GSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFY
 15 YGMDVWGQGTTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSFLSASVG
 DRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTE
 FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 228 – Dominio de unión al antígeno extracelular**20 (KL2B30 LH)**

DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQ
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK GG

SE GKSSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWS
 WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT
 AVYYCAGTTIFGVVTPNFYYGMDVWGQGTTVTVSS

5 **Sec. con núm. de ident.: 229 – Dominio de unión al antígeno extracelular**
(KL2B53 HL)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAIISY
 DGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVED SAVYSCARESGWSHY
 10 YYYGMDVWGQGTMTVSSGGSE GKSSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPSSLSA
 SVGDRVITICRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAAS TLHSGVPSRFSGSGS
 GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYN SAPYTFGQGTRLEIK

Sec. con núm. de ident.: 230 – Dominio de unión al antígeno extracelular
 15 **(KL2B53 LH)**

DIVMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAAS TLH
 SGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDVATYYCQKYN SAPYTFGQGTRLEIKGG
 SEGKSSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIH
 20 WVRQAPGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRV
 ED SAVYSCARESGWSHYYYGMDVWGQGTMTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 231 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B242 HL)**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYV
 5 SGFTNYNPSLKSRLVTLSDPSRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWFD
 DPWGQGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSSYELTQPPSVSVSPGETASIT
 TCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLT
 ISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVL

10 Sec. con núm. de ident.: 232 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B242 LH)**

SYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKR
 PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVLG
 15 GSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYW
 SWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYNPSLKSRLVTLSDPSRNQLSLKLSSVTAA
 DTAVYYCAGDSGNYWGWFD
 DPWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 233 – Dominio de unión al antígeno extracelular**20 (KL2B467 HL)**

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIS
 YDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSY

WAFDYWGQGTQVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQSVLTQPPSVSVAPG
 QTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDRPSGIPERFSGSNSGT
 TATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKVTV

5 **Sec. con núm. de ident.: 234 – Dominio de unión al antígeno extracelular**
(KL2B467 LH)

QSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDR
 PSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFGGGTKV
 10 TVGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS
 YYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 235 – Dominio de unión al antígeno extracelular
 15 **(KL2B494 HL)**

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIG
 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMVT
 LLYDGMVWGQGTMTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSSSELTQPPSVSV
 20 APGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDSDRPSGIPERFSGSN
 SGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL

Sec. con núm. de ident.: 236 – Dominio de unión al antígeno extracelular
(KL2B494 LH)

SSELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDR
5 PSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLT
VLGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS
HYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQGTMTVTVSS

10 **Sec. con núm. de ident.: 237 - secuencia enlazadora**

GGGSGGGS

Sec. con núm. de ident.: 238 - secuencia enlazadora

15

GGGSGGGSGGGS

Sec. con núm. de ident.: 239 - secuencia enlazadora

20

GGGSGGGSGGGSGGGS

Sec. con núm. de ident.: 240 - secuencia enlazadora

GGGSGGGSGGGSGGGSGGGG

Sec. con núm. de ident.: 241 - secuencia enlazadora

5 GGGGSGGGGSGGGG

Sec. con núm. de ident.: 242 - secuencia enlazadora

GGGGSGGGGSGGGGSGGGG

10

Sec. con núm. de ident.: 243 - secuencia enlazadora

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG

15 **Sec. con núm. de ident.: 244 - secuencia enlazadora**

GSTSGSGKPGSGEGSTKG

Sec. con núm. de ident.: 245 - secuencia enlazadora

20

IRPRAIGGSKPRVA

Sec. con núm. de ident.: 246 - secuencia enlazadora

GKGGSGKGGSGKGG

Sec. con núm. de ident.: 247 - secuencia enlazadora

5 GGKSGGKGGSGGKGS

Sec. con núm. de ident.: 248 - secuencia enlazadora

GGGKSGGGKSGGGKS

10

Sec. con núm. de ident.: 249 - secuencia enlazadora

GKGKSGKGKSGKGKS

15 **Sec. con núm. de ident.: 250 - secuencia enlazadora**

GGGKSGGKGGSGKGG

Sec. con núm. de ident.: 251 - secuencia enlazadora

20

GKPGSGKPGSGKPGS

Sec. con núm. de ident.: 252 - secuencia enlazadora

GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS

Sec. con núm. de ident.: 253 - secuencia enlazadora

5 GKKGSGKGKSGKGKSGKGKS

Sec. con núm. de ident.: 254 - secuencia enlazadora

10 STAGDTHLGGEDFD

Sec. con núm. de ident.: 255 - secuencia enlazadora

GEGGSGEGGSGEGGS

15 **Sec. con núm. de ident.: 256 - secuencia enlazadora**

GGEGSGGEGSGGEGS

Sec. con núm. de ident.: 257 - secuencia enlazadora

20 GEGESGEGESGEGES

Sec. con núm. de ident.: 258 - secuencia enlazadora

GGGESGGEGSGEGGS

Sec. con núm. de ident.: 259 - secuencia enlazadora

5 GEGESGEGESGEGESGEGES

Sec. con núm. de ident.: 260 - secuencia enlazadora

10 GSTSGSGKPGSGEGSTKG

Sec. con núm. de ident.: 261 - secuencia enlazadora

PRGASKSGSASQTGSAPGS

15 **Sec. con núm. de ident.: 262 - secuencia enlazadora**

GTAAAGAGAAGGAAAGAAG

Sec. con núm. de ident.: 263 - secuencia enlazadora

20 GTSGSSGSGSGGSGSGGGG

Sec. con núm. de ident.: 264 - secuencia enlazadora

GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS

Sec. con núm. de ident.: 265 - secuencia enlazadora

5 GSGS

Sec. con núm. de ident.: 266 - secuencia enlazadora

APAPAPAPAP

10

Sec. con núm. de ident.: 267 - secuencia enlazadora

APAPAPAPAPAPAPAPAPAP

15 **Sec. con núm. de ident.: 268 - secuencia enlazadora**

AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAA

Sec. con núm. de ident.: 269 - secuencia de bisagra de CAR

20

EPKSCDKTHTCPPCP

Sec. con núm. de ident.: 270 – secuencia de bisagra de CAR

ERKCCVECPPCP

Sec. con núm. de ident.: 271 – secuencia de bisagra de CAR

5 ELKTP LGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)3

Sec. con núm. de ident.: 272 – secuencia de bisagra de CAR

ESKYGPPCPSCP

10

Sec. con núm. de ident.: 273– Dominio de unión al antígeno 1 extracelular

(LH HCG5 LCD6 20AA) con péptido señal

MAVWV TLLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYA
 15 WNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTP
 VDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIV
 LTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

20 **Sec. con núm. de ident.: 274 – Dominio de unión al antígeno 2 extracelular**

(HL HCG5 LCHumanized 20AA) con péptido señal

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYA
 WNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTP
 VDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIV
 LTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 5 RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 275– Dominio de unión al antígeno 3 extracelular

(HL HCF3 LCB7 20AA) con péptido señal

10 MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYA
 WNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTP
 VDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIV
 LTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGGTKLEIK
 15

Sec. con núm. de ident.: 276– Dominio de unión al antígeno 4 extracelular

(LH HCG5 LCB7 20AA) con péptido señal

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYA
 20 WNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTP
 VDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIV
 LTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 277 – Dominio de unión al antígeno 5 extracelular**(LH LCD6 HCG5 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 5 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTIQSVQAEDVSV
 YFCQQTRKVPYTFGQGKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSL
 KSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

10 Sec. con núm. de ident.: 278 – Dominio de unión al antígeno 6 extracelular**(LH LCHumanized HCF3 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAV
 15 YYCQQTRKVPYTFGQGKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLK
 SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 279 – Dominio de unión al antígeno 7 extracelular**20 (LH LCHumanized HCG5 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAV

YYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSL
 KSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

5 **Sec. con núm. de ident.: 280 – Dominio de unión al antígeno 8 extracelular**
(LH LCB7 HCF3 20AA) con péptido señal

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAV
 10 YYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLK
 SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 281 – Dominio de unión al antígeno 9 extracelular
 15 **(LH LCB7 HCG5 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAV
 YYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 20 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTTYNPSL
 KSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 282 – Dominio de unión al antígeno 10 extracelular**(LH LCD6 HCF3 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 5 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIQSVQAEDVSV
 YFCQQTRKVPYTFGQGKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLK
 SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTPVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSS

10 Sec. con núm. de ident.: 283 – Dominio de unión al antígeno 11 extracelular**(HL HCHumanized LCB7 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYA
 WNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTA
 15 VDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIV
 LTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 284 – Dominio de unión al antígeno 12 extracelular**20 (HL HCHumanized LCD6 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYA
 WNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTA

VDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIV
 LTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVSVYFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

5 **Sec. con núm. de ident.: 285 – Dominio de unión al antígeno 13 extracelular**
(HL HCHumanized LCHumanized 20AA) con péptido señal

MAWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYA
 WNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTA
 10 VDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIV
 LTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGTKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 286 – Dominio de unión al antígeno 14 extracelular
 15 **(LH LCD6 HCHumanized 20AA) con péptido señal**

MAWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVSV
 YFCQQTRKVPYTFGQGTKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 20 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSL
 KSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGLTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 287 – Dominio de unión al antígeno 15 extracelular**(LH LCHumanized HCHumanized 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 5 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV
 YYCQQTRKVPYTFGQGKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSL
 KSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

10 Sec. con núm. de ident.: 288 – Dominio de unión al antígeno 16 extracelular**(LH LCB7 HCHumanized 20AA) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSL
 MHWYQQKPGQPPKLLIYAASNRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAV
 15 YYCQQTRKVPYTFGQGKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYPNPSL
 KSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 289 – Dominio de unión al antígeno 17 extracelular**20 (KL2B413 HL) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWM
 TWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSERYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA

EDTAVYYCARDQNYDILTGHYGMVDVWGQGTTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKST
 GGSEIVLTQSPSFLSASVGDRVITICRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTL
 QSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPRTFGQGTKVEIK

5 **Sec. con núm. de ident.: 290 – Dominio de unión al antígeno 18 extracelular**
(KL2B413 LH) con péptido señal

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAEIVLTQSPSFLSASVGDRVITICRASQGISSYLSWYQ
 QKPGKAPKLLIYATSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNS
 10 YPRTFGQGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL
 SCAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSERYVDSVKGRFTISRD
 NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQNYDILTGHYGMVDVWGQGTTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 291 – Dominio de unión al antígeno 19 extracelular
 15 **(KL2B359-HL) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYA
 WNWIRQFPGKRLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAA
 DTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVL
 20 TQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASN
 VESGIPARFSGSGSGTDFTLTISVPEPDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 292 – Dominio de unión al antígeno 20 extracelular**(KL2B359-LH) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTS
 5 LMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAV
 YFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQFPGKRLEWIGYISYSGSTTYNPSLK
 SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSS

10 Sec. con núm. de ident.: 293 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B357 HL) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYA
 WNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTA
 15 ADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSDIV
 LTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 VESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQTRKVPYTFGGGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 294 – Dominio de unión al antígeno extracelular**20 (KL2B357 LH) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYFGTS
 LMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVA

VYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGP
 GLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPS
 LKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVTVSS

5 **Sec. con núm. de ident.: 295 – Dominio de unión al antígeno extracelular**
(KL2B358 HL) con péptido señal

MAWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYA
 WNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTA
 10 ADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIV
 LTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASN
 VESGIPARFSGSGSGTDFTLTISVPEPDAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 296 – Dominio de unión al antígeno extracelular
 15 **(KL2B358 LH) con péptido señal**

MAWVWTLFLMAAAQSIQAEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTS
 LMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISVPEPDAV
 YFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 20 LVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIWIRQPPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSL
 KSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 297 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B360 HL) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYA
 5 WNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTA
 ADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIV
 LTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPRLLIYAASN
 VESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIK

10 Sec. con núm. de ident.: 298 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B360 LH) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTS
 LMHWYQQKPGQPPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFAV
 15 YFCQQTRKVPYTFGGGKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPG
 LVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWIGYISYSGSTTYNPSLK
 SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 299 – Dominio de unión al antígeno extracelular**20 (KL2B30 HL) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWS
 WIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT

AVYYCAGTTIFGVVTPNFYYGMDVWGQGTTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTG
 GSDIQMTQSPSFLSASVGDRVITICRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKFLIYAAS
 LQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK

5 **Sec. con núm. de ident.: 300 – Dominio de unión al antígeno extracelular**
(KL2B30 LH) con péptido señal

MAVWWTLLFLMAAAQSIQADIQMTQSPSFLSASVGDRVITICRASQGISSYLAW
 YQQKPGKAPKFLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQ
 10 LNSYPLTFGGGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSE
 TSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTISV
 DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAGTTIFGVVTPNFYYGMDVWGQGTTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 301 – Dominio de unión al antígeno extracelular
 15 **(KL2B53 HL) con péptido señal**

MAVWWTLLFLMAAAQSIQAEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSSYDIH
 WVRQAPGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMDSLRVE
 DSAVYSCARESGWSHYYYYGMDVWGQGTMTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKST
 20 GGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDISNYLAWYQQKPGKVPKFLIYAAS
 TLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPYTFGQGTRLEIK

Sec. con núm. de ident.: 302 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B53 LH) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQADIVMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDISNYLAWY
 5 QQKPGKVPKFLIYAASLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQKY
 NSAPYTFGQGTRLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGVVQPGRS
 LRLSCVASGFTFSSYDIHWVRQAPGKGLEWVAIISYDGSKKDYTDSVKGRFTISR
 DNSKNTLYLQMDSLVRVEDSAVYSCARES GWSHYYYYGMDVWGQGTMTVTVSS

10 Sec. con núm. de ident.: 303 – Dominio de unión al antígeno extracelular**(KL2B242 HL) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYW
 SWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRLVTLSDPSRNQLSLKLSSVTAA
 15 DTAVYYCAGDSGNYWGWFDPWGQGTLVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGG
 SSYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSK
 RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQAWDNSIVVFGGGTKLTVL

Sec. con núm. de ident.: 304 – Dominio de unión al antígeno extracelular**20 (KL2B242 LH) con péptido señal**

MAVWVWTLFLMAAAQSIQASYELTQPPSVSVSPGETASITCSGDQLGENYACW
 YQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQALDEADYYCQ

AWDNSIVVFGGGTKLTVLGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKP
 SETLSLTCTVSGGSISSYYWSWLRQPAGSGLEWIGRLYVSGFTNYPNPSLKSRV
 TSLDPSRNQLSLKLSSVTAADTAVYYCAGDSGNYWGWFDPPWGQGTTLTVSS

5 **Sec. con núm. de ident.: 305 – Dominio de unión al antígeno extracelular**
(KL2B467 HL) con péptido señal

MAVWWTLLFLMAAAQSIQAQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYYGM
 HWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA
 10 EDTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGG
 SQSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVDNSDR
 PSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPVVFSGGGTKVTV

Sec. con núm. de ident.: 306 – Dominio de unión al antígeno extracelular
 15 **(KL2B467 LH) con péptido señal**

MAVWWTLLFLMAAAQSIQAQSVLTQPPSVSVAPGQTASITCGGDNIGSKSVHWYQ
 QKPGQAPVLVVDNSDRPSGIPERFSGSNSGTTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD
 SSSDHPVVFSGGGTKVTVGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGVVQPGR
 20 SLRLSCAASGFTFSYYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNKYYADSVKGRFTIS
 RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAHLPYSGSYWAFDYWGQGTQVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 307 – Dominio de unión al antígeno extracelular
(KL2B494 HL) con péptido señal

MAVWVWTLFLMAAAQSIQAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYAMS
 5 WVRQAPGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED
 TAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQGTMVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGG
 SSEL TQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVYDDSDRP
 SGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL

10 **Sec. con núm. de ident.: 308 – Dominio de unión al antígeno extracelular**
(KL2B494 LH) con péptido señal

MAVWVWTLFLMAAAQSIQASSEL TQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQ
 QKPGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWD
 15 SSSDHVVFGGGTKLTVLGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLVESGGGLVQPGGS
 LRLSCAASGFTFSHYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGGSGGSTYYADSVKGRFTISR
 DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPHIVMTALLYDGMDVWGQGTMVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 309 – secuencia de CDR1 de cadena pesada

20

GFTFSSYWMT

Sec. con núm. de ident.: 310 – secuencia de CDR2 de cadena pesada

NIKQDGSERY

Sec. con núm. de ident.: 311 – secuencia de CDR3 de cadena pesada

5 DQNYDILTGHYGM DV

Sec. con núm. de ident.: 312 – secuencia de CDR1 de cadena ligera

RASQGISSYLS

10

Sec. con núm. de ident.: 313 – secuencia de CDR2 de cadena ligera

ATSTLQS

15 **Sec. con núm. de ident.: 314 – secuencia de CDR1 de cadena pesada**

SYWMT

Sec. con núm. de ident.: 315 – secuencia de CDR2 de cadena pesada

20

NIKQDGSERY YVDSVKG

Sec. con núm. de ident.: 316 – secuencia de CDR2 de cadena pesada

YISYSGSTTYSPSLKS

Sec. con núm. de ident.: 317 – VH (m11B6)

5 DVQLQESGPGLVKPSQSLTCTVTGNSITSDYAWNWIRQFPGNRLEWMGYIS
YSGSTTYSPSLKSRFSITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYFCATGYYYGSGFW
GQGT LVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 318 – VL (m11B6)

10

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYFGTSLMHWYRQKPGQPPKLLIYAAS
NVESGVPARFSGSGSGTDFSLNIQPVEEDDFSMYFCQQTRKVPYTFGGGKLEIK

Sec. con núm. de ident.: 319 – proteína 6-His de calicreína humana 2

15

VPLIEGRIVGGWECEKHSQPWQVAVYSHGWAHCGGVLVHPQWVLTAHCLKK
NSQVWLGRHNLFEPEDTGQRVPVSHSFPHPLYNMSLLKHQSLRPDEDSSHDL
MLLRLSEPAKITDVVKVLGLPTQEPALGTTCYASGWGSIEPEEFLRPRSLQCVSL
HYSEKVTEFMLCAGLWTGGKDTCCGGDSGGPLVCNGVLQGITSWGPEPCALPE

20

KPAVYTKVVHYRKWIKDTIAANPHHHHHH

Sec. con núm. de ident.: 320 – VH ADNc (m11B6)

GATGTGCAGCTTCAGGAGTCTGGACCCGGACTTGTTAAACCAAGTCAGTCT
CTGTCCCTGACCTGTACCGTCACCGGCAACAGCATCACAAGCGATTACGCA
TGGA ACTGGATCAGGCAGTTCCCTGGAAATCGACTCGAATGGATGGGCTAC
ATTTCACTACTCCGGTTCAACCACTTACTCTCCATCCTTGAAATCTAGGTTTCAG
5 CATCACCCGTGATACCTCAAAGAACCAATTTTTCTGCAACTGAATAGCGTAA
CTCCAGAGGACACAGCCACATATTTCTGCGCCACTGGGTATTACTATGGCTC
AGGTTTCTGGGGTCAGGGCACTCTCGTCACCGTCAGCAGC

Sec. con núm. de ident.: 321 – VH ADNc (hu11B6)

10

CAGGTCCA ACTGCAAGAGAGCGGACCGGGCCTGGTAAAGCCATCCGACAC
ATTGTCCCTGACGTGTGCGGTAAGTGGAACTCTATCACTAGCGACTATGCG
TGGAATTGGATAAGACAACCGCCGGGCAAGGGGCTGGAATGGATAGGATAT
ATCAGCTATTCCGGTTCTACGACATACAATCCTTCCCTGAAAAGCAGAGTCA
15 CTATGTCACGCGACACGTCCAAGAATCAGTTCTCATTGAAATTGTCATCCGT
AACGGCCGTTGACACTGCGGTTTATTATTGCGCAACCGGATATTACTACGGC
TCTGGTTTTTGGGGACAGGGAACACTTGTTACTGTTAGTTCA

Sec. con núm. de ident.: 322 – VH ADNc (HCF3-LCD6)

20

CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCAGGCCTGGTGAAGCCAAGCGACAC
CCTGAGCCTGACCTGCGCCGTGAGCGGCAACAGCATCACCAGCGACTACG
CCTGGA ACTGGATCCGCCAGTTCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGC

TACATCAGCTACAGCGGCAGCACCACTACAACCCAAGCCTGAAGAGCCGC
GTCACCATCAGCCGCGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGC
AGCGTGACCCCTGTGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCACCGGCTACTAC
TACGGCAGCGGCTTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCAGC

5

Sec. con núm. de ident.: 323 – VH ADNc (HCG5-LCB7)

CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCAGGCCTGGTGAAGCCAAGCGACAC
CCTGAGCCTGACCTGCGCCGTGAGCGGCAACAGCATCACCAGCGACTACG
10 CCTGGAAGTGGATCCGCCAGTTCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGC
TACATCAGCTACAGCGGCAGCACCACTACAACCCAAGCCTGAAGAGCCGC
GTCACCATCAGCCGCGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGC
AGCGTGACCCCTGTGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCACCGGCTACTAC
TACGGCAGCGGCTTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCAGC

15

Sec. con núm. de ident.: 324 – VH ADNc (KL2B359)

CAGGTTCAGCTGCAAGAGTCTGGACCAGGCCTGGTCAAGCCCTCTCAGACC
CTGTCTCTGACCTGTACCGTGTCCGGCAACTCCATCACCTCTGACTACGCCT
20 GGAAGTGGATTCTGGCAGTTCCCTGGCAAGCGCCTTGAGTGGATCGGCTACA
TCTCCTACTCCGGTTCCACCACCTACAACCCCAGCCTGAAGTCCCGGGTCA
CCATCTCCCGCGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCG

TGACCGCTGCTGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCACCGGCTACTACTACG
GCTCCGGCTTTTGGGGACAGGGCACACTGGTTACCGTGTCTAGT

Sec. con núm. de ident.: 325 – VH ADNc (KL2B413)

5

GAGGTGCAACTTGTGGAGAGCGGCGGAGGTCTGGTCCAACCCGGAGGAAGTC
TCCGTCTCTCCTGTGCTGCTAGTGGCTTCACTTTCAGCTCATATTGGATGACAT
GGGTGAGACAAGCCCCAGGAAAGGGGCTCGAGTGGGTAGCTAACATTAAACA
GGACGGCTCCGAACGGTACTATGTTGATTCTGTGAAGGGACGGTTCACTATAT
10 CCAGGGATAATGCAAAAAATTCCTCTATCTTCAAATGAACTCACTCAGAGCAG
AGGACACTGCCGTGTATTATTGCGCCAGGGATCAAAATTATGACATACTGACCG
GTCATTATGGAATGGATGTTTGGGGCCAGGGAACAACCGTTACCGTCTCAAGT

Sec. con núm. de ident.: 326 – VL ADNc (m11B6)

15

GACATTGTGCTGACACAGAGTCCAGCATCCTTGGCAGTATCTTTGGGGCAG
CGGGCAACAATTTTCATGCCGTGCATCTGAAAGTGTGGAGTATTTTGGAAGTT
CTCTTATGCACTGGTATCGCCAGAAGCCTGGGCAGCCTCCCAAACCTCCTTAT
ATATGCCGCTTCCAACGTGGAGTCCGGAGTACCAGCACGCTTTTCCGGCTC
20 TGGGTCCGGCACAGACTTTTCCCTCAATATCCAACCTGTTGAAGAAGACGAT
TTTTCCATGTATTTTGGCCAACAGACACGCAAGGTTCCATATACATTCCGGCG
GCGGCACTAACTTGAGATCAAA

Sec. con núm. de ident.: 327 – VL ADNc (hu11B6)

GACATAGTCTTGA CT CAGAGCCCGGATTCCCTTGCTGTGTCTCTGGGAGAA
CGAGCTACGATCAACTGCAAGGCAAGTGAATCCGTAGAATACTTCGGGACA
5 TCATTGATGCATTGGTATCAACAGAAACCGGGGCAACCGCCCAAATTGCTGA
TATATGCGGCTAGTAATAGAGAATCAGGAGTACCGGATAGGTTTAGTGGTTC
AGGATCAGGTACAGATTTCAACCCTGACAATAAGTAGCTTGCAAGCCGAAGAC
GTAGCAGTGTATTACTGCCAACAAACCCGAAAGGTGCCATATACGTTTGGAC
AGGGTACAAAGTTGGAAATCAAA

10

Sec. con núm. de ident.: 328 – VL ADNc (HCF3-LCD6)

GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGACAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGA
GCGCGCCACCATCAACTGCAAGGCCAGCGAGAGCGTGGAGTACTTCGGCA
15 CCAGCCTGATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGCCACCAAAGCTG
CTGATCTACGCTGCCAGCAACCGCGAGAGCGGCGTGCCAGACCGCTTCAG
CGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCCAGAGCGTGCAGG
CCGAGGACGTCTCCGTGTACTTCTGCCAGCAGACCCGCAAGGTGCCATACA
CCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

20

Sec. con núm. de ident.: 329 – VL ADNc (HCG5-LCB7)

GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGACAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGA
GCGCGCCACCATCAACTGCAAGGCCAGCGAGAGCGTGGAGTACTTCGGCA
CCAGCCTGATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGCCACCAAAGCTG
CTGATCTACGCTGCCAGCAACCGCGAGAGCGGCGTGCCAGACCGCTTCAG
5 CGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCGTGCAGG
CCGAGGACGTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGACCCGCAAGGTGCCATAC
ACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

Sec. con núm. de ident.: 330 – VL ADNc (KL2B359)

10

GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGCCACACTGTCACTGTCTCCAGGCGAG
AGAGCCACCCTCTCTTGTAGAGCCTCCGAGTCCGTGGAATACTTCGGCACC
TCTCTGATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCTAGACTGCTG
ATCTACGCCGCCTCCAACGTCTGAATCTGGCATCCCCGCTAGATTCTCCGGC
15 TCTGGCTCTGGCACAGACTTTACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAACCCGAG
GATTCGCTGTGTACTTTTGCCAGCAGACCCGGAAGGTGCCCTACACATTG
GCGGCGGAACAAAGGTGGAAATCAAG

Sec. con núm. de ident.: 331 – VL ADNc (KL2B413)

20

GAAATCGTACTGACCCAGTCCCCTTCTTTCTTGAGTGCATCAGTTGGGGATAGA
GTGACCATTACTTGTAGAGCATCTCAAGGTATTTCTTCATACTTGTCTTGGTATC
AACAAAAACCTGGCAAGGCACCCAAACTCTTGATCTACGCCACCTCTACATTGC

AAAGTGGGGTTCCTTCTAGGTTTTAGGCTCCGGCTCTGGTACCGAGTTCACC
 CTCACTATAAGCAGTCTCCAACCTGAAGATTTTCGCTACTTATTATTGTCAGCAGC
 TTAATTCTTATCCCCGAACCTTTGGTCAAGGAACTAAGGTCGAGATCAAA

5 **Sec. con núm. de ident.: 332 – m11B6 HC IgG4**

DVQLQESGPGLVKPSQSLTCTVTGNSITSDYAWNWRQFPGNRLEWMGYISYS
 GSTTYSPLKSRFSITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYFCATGYYYGSGFWGQGT
 LVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV
 10 HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC
 PPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNV
 EVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISK
 PKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKN
 TEPVLDSGDSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

15

Sec. con núm. de ident.: 333– m11B6 LC IgG4

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYFGTSLMHWYRQKPGQPPKLLIYAAS
 NVESGVPARFSGSGSGTDFSLNIQPVEEDDFSMYFCQQTRKVPYTFGGGKLEIK
 20 RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNS
 WTDQDSKDSYSTMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

Sec. con núm. de ident.: 334 – h11B6 HC IgG4

QVQLQESGPGGLVKPSDTLSLTCAVSGNSITSDYAWNWRQPPGKGLEWIGYISY
 SGSTTYNPSLKSRTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCATGYYYGSGFW
 GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
 GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
 5 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSH
 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV
 MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

Sec. con núm. de ident.: 335 – h11B6 LC IgG4

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPPKLLIYAAS
 NRESGVPPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQTRKVPYTFGQGKLEIK
 15 RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
 VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Sec. con núm. de ident.: 336 – m11B6 HC ADN

20 GATGTGCAGCTTCAGGAGTCTGGACCCGGACTTGTTAAACCAAGTCAGTCTC
 TGTCCCTGACCTGTACCGTCACCGGCAACAGCATCACAAGCGATTACGCATG
 GAACTGGATCAGGCAGTTCCTGGAAATCGACTCGAATGGATGGGCTACATT
 TCATACTCCGGTTCAACCACTTACTCTCCATCCTTGAAATCTAGGTTTCAGCAT

CACCCGTGATACCTCAAAGAACCAATTTTTCTGCAACTGAATAGCGTAACTC
CAGAGGACACAGCCACATATTTCTGCGCCACTGGGTATTACTATGGCTCAGG
TTTCTGGGGTCAGGGCACTCTCGTCACCGTCAGCAGCGCCAAAACAACAGCA
CCAAGTGTCTATCCACTGGCCCCTGTGTGTGGAGATACAACCTGGCTCCTCGG
5 TGACTCTAGGATGCCTGGTCAAGGGTTATTTCCCTGAGCCAGTGACCTTGAC
CTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGTGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTG
CAGTCTGACCTCTACACCCTCAGCAGCTCAGTGACTGTAACCTCGAGCACCT
GGCCCAGCCAGTCCATCACCTGCAATGTGGCCCACCCGGCAAGCAGCACCA
AGGTGGACAAGAAAATTGAGCCCAGAGGGCCCACAATCAAGCCCTGTCCTC
10 CATGCAAATGCCCAGCACCTAACCTCTTGGGTGGACCATCCGTCTTCATCTT
CCCTCCAAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTCACAT
GTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATCAGCTGGT
TTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGAGAGGA
TTACAACAGTACTCTCCGGGTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAGGAC
15 TGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAAGACCTCCCAG
CGCCCATCGAGAGAACCATCTCAAACCCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACA
GGTATATGTCTTGCCTCCACCAGAAGAAGAGATGACTAAGAAACAGGTCACT
CTGACCTGCATGGTCACCGACTTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGA
CCAACAACGGGAAAACAGAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCTGGA
20 CTCTGATGGTTCTTACTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAACT
GGGTGGAAAGAAATAGCTACTCCTGTTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAA
TCACCACACGACTAAGAGCTTCTCCCGGACTCCGGGTAAA

Sec. con núm. de ident.: 337 – mu11B6 LC ADN

GACATTGTGCTGACACAGAGTCCAGCATCCTTGGCAGTATCTTTGGGGCAG
CGGGCAACAATTTTCATGCCGTGCATCTGAAAGTGTGGAGTATTTTGGAAGTT
5 CTCTTATGCACTGGTATCGCCAGAAGCCTGGGCAGCCTCCCAAACCTCCTTAT
ATATGCCGCTTCCAACGTGGAGTCCGGAGTACCAGCACGCTTTTCCGGCTC
TGGGTCCGGCACAGACTTTTCCCTCAATATCCAACCTGTTGAAGAAGACGAT
TTTTCCATGTATTTTGGCCAACAGACACGCAAGGTTCCATATACATTTCGGCG
GCGGCACTAAACTTGAGATCAAACGGGCTGATGCTGCACCGACTGTGTCCA
10 TCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGT
GCTTCTTGAACAACCTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGA
TGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAG
CAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCCTCACGTTGACCAAGGACGA
GTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACT
15 TCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT

Sec. con núm. de ident.: 338 – hu11B6 HC ADN

CAGGTCCAAGTCAAGAGAGCGGACCGGGCCTGGTAAAGCCATCCGACACA
20 TTGTCCCTGACGTGTGCGGTAAGTGGAACTCTATCACTAGCGACTATGCGT
GGAATTGGATAAGACAACCGCCGGGCAAGGGGCTGGAATGGATAGGATATA
TCAGCTATTCCGGTTCTACGACATACAATCCTTCCCTGAAAAGCAGAGTCACT
ATGTCACGCGACACGTCCAAGAATCAGTTCTCATTGAAATTGTCATCCGTAAC

GGCCGTTGACACTGCGGTTTATTATTGCGCAACCGGATATTACTACGGCTCT
GGTTTTTGGGGACAGGGAACACTTGTTACTGTTAGTTCAGCCTCCACCAAGG
GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA
CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG
5 TGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG
TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC
CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC
AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACA
CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCC
10 TCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT
CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA
CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGA
GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCA
CCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC
15 CCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCG
AGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA
CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC
GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCT
CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
20 ACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

Sec. con núm. de ident.: 339 – hu11B6 LC ADN

GACATAGTCTTGACTCAGAGCCCGGATTCCCTTGCTGTGTCTCTGGGAGAA
 CGAGCTACGATCAACTGCAAGGCAAGTGAATCCGTAGAATACTTCGGGACA
 TCATTGATGCATTGGTATCAACAGAAACCGGGGCAACCGCCCAAATTGCTGA
 TATATGCGGCTAGTAATAGAGAATCAGGAGTACCGGATAGGTTTAGTGGTTC
 5 AGGATCAGGTACAGATTTCAACCCTGACAATAAGTAGCTTGCAAGCCGAAGAC
 GTAGCAGTGTATTACTGCCAACAAACCCGAAAGGTGCCATATACGTTTGGAC
 AGGGTACAAAGTTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT
 CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGC
 CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT
 10 AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGGACAGC
 AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGAC
 TACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC
 TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

15 **Sec. con núm. de ident.: 340 – scFv 17 (KL2B413 HL)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIK
 QDGSERYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQNYDIL
 TGHYGM DVWGQGT TTVTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPSFLSA
 20 SVGDRV TITCRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQSGVPSRFSGSGS
 GTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPRTFGQGTKVEIK

Sec. con núm. de ident.: 341 – scFv 18 (KL2B413 LH)

EIVLTQSPSFLSASVGDRVITICRASQGISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQ
 SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPRTFGQGTKVEIKGG
 SEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWM
 TWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSERYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLR
 5 AEDTAVYYCARDQNYDILTGHYGMVWVGQGTTVTVSS

Sec. con núm. de ident.: 342 – scFv 19 (KL2B359 HL)

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSITSDYAWNWRQFPGKRLEWIGYISY
 10 SGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWG
 QGTLTVSSGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
 SESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPRLLIYAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTI
 SSVEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKVEIK

15 **Sec. con núm. de ident.: 343 – scFv 20 (KL2B359 LH)**

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPRLLIYA
 ASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYFCQQTRKVPYTFGGGKTV
 EIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGNSIT
 20 SDYAWNWRQFPGKRLEWIGYISYSGSTTYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLS
 SVTAADTAVYYCATGYYYGSGFWGQGTLTVSS

Sec. con núm. de ident.: 344, secuencia de consenso de VH

QVQLQESGPGGLVKPSX₁TL_{SLTC}X₂VSGNSITSDYAWNWIRQX₃PGKGLEWX₄G
YISYSGSTTYNPSLKSRVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTX₅X₆DTAVYYCATGYYYYG
SGFWGQGTLTVSS

- 5 X₁ es D o Q; X₂ es A o T; X₃ es P o F; X₄ es I o M; X₅ es A o P; o X₆ es V o A.
 Los residuos de HCDR están subrayados.

Sec. con núm. de ident.: 345, secuencia de consenso de VL

10 X₁IVLTQSPX₂X₃LX₄X₅SX₆GERATX₆X₈CX₉ASESVEYFGTSLMHWYQQKPGQPP
 X₁₀LLIYAASNX₁₁ESGX₁₂PX₁₃RFSGSGSGTDFTLTIX₁₄SLQX₁₅EDX₁₆AVYX₁₇CQ
QTRKVPYTFG X₁₈GTKX₁₉EIK

- X₁ es D o E; X₂ es D o A; X₃ es S o T; X₄ es A o S; X₅ es V o L; X₆ es L o P;
 15 X₇ es I o L; X₈ es N o S; X₉ es R o K; X₁₀ es K o R; X₁₁ es V o R; X₁₂ es V o I;
 X₁₃ es A o D; X₁₄ es Q o S; X₁₅ es P o A; X₁₆ es F o V; X₁₇ es Y o F; X₁₈ es
 Q o G; y X₁₉ es L o V. Los residuos de LCDR están subrayados.

Sec. con núm. de ident.: 346 – epítipo

20

KVTEF

Sec. con núm. de ident.: 347 – epítipo

HYRKW

Sec. con núm. de ident.: 348 – epítopo

5 SHGWAH

Sec. con núm. de ident.: 349 – epítopo

RHNLFEPEDTGQRVP

10

Sec. con núm. de ident.: 350 – epítopo

GWGSIEPEE