

P- 2021/26473

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2022/0001426**Solicitud de patente a nombre de **AMGEN INC.**, y **KITE PHARMA INC.**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de las sociedades AMGEN INC., y KITE PHARMA INC., domiciliadas en Estados Unidos de América, solicitantes de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **2878** notificado electrónicamente el 8 de marzo de 2022, relacionado con los requerimientos de fondo de la solicitud, y para el cual oportunamente solicité prórroga el 31 de mayo de 2022, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. Modificaciones a la solicitud

1.1 Título

En primera medida, con respecto a la observación sobre la falta de relación del título con el objeto de la solicitud contenido en la descripción y las reivindicaciones, me permito señalar que es deseo del solicitante modificar el título siguiendo la amable recomendación realizada por el examinador, de modo que ahora se lee:

"RECEPTOR DE ANTÍGENO QUIMÉRICO QUE COMPRENDE UN DOMINIO DE UNIÓN A
FLT3 DERIVADO DEL CLON 2E7"

En vista de lo anterior, amablemente solicito que la objeción al respecto se dé por superada.

1.2 Modificación al listado de secuencias

De otro lado, con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, se presenta un nuevo listado de secuencias, en el cual se incluyó la secuencia SEQ ID NO: 99, que corresponde a la secuencia del CDR2 de la cadena pesada del clon 2E7, con el propósito de corregir un error material en el listado de secuencias proporcionado originalmente.

Esta modificación encuentra soporte en la página 113 en donde se muestra la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del clon 2E7 subrayando las secuencias de las CDR:

"AA del clon 2E7 HC (las CDR están subrayadas)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLRNNARMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSNDEKT
YSTSLKSRLTISRDTSKGQVVLTKMDPVDATYYCARIPYYGSGSHNYGMDVWGQGT
TVTVSS (SEQ ID NO: 26)"

Sin embargo, dicha secuencia había sido erróneamente numerada como SEQ ID NO: 26 en la solicitud PCT (PCT/US2017/025613) y posteriormente como SEQ ID NO: 18 al momento de presentar la solicitud divisional. Con el fin de subsanar dicho error se incluyó una nueva secuencia: SEQ ID NO: 99 como se muestra a continuación:

<210> 99

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

His	Ile	Phe	Ser	Asn	Asp	Glu	Lys	Thr	Tyr	Ser	Thr	Ser	Leu	Lys	Ser
1			5				10			15					

Por lo tanto, amablemente solicito que el nuevo listado de secuencias sea tenido en cuenta para fines del estudio de la presente solicitud.

1.3 Modificación a la descripción

Del mismo modo, el solicitante desea presentar una nueva descripción, en la cual se llevaron a cabo las siguientes modificaciones:

- Se corrigió la referencia a la secuencia de la CDR2 de cadena pesada del clon 2E7, en las páginas 11, 20, y 114, indicando que dicha secuencia corresponde a la SEQ ID NO: 99.

Al respecto me permito resaltar que estas modificaciones se presentan con el fin de subsanar el error material mencionado previamente en la numeración de la secuencia de aminoácidos de dicho CDR2 de la cadena pesada del clon 2E7, y definir la materia reclamada de una manera más clara.

1.4 Modificación a las Reivindicaciones

Finalmente, nuevamente con fundamento en las disposiciones del Art. 34 de la decisión 486, presento junto a este memorial un nuevo capítulo reivindicatorio, el cual consta de diez (10) reivindicaciones y reemplaza completamente el presentado el 11 de agosto de 2021. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

- En las reivindicaciones 1 y 9 se corrigió la secuencia correspondiente a la CDR2 de cadena pesada del clon 2E7, indicando que dicha secuencia corresponde a la SEQ ID NO: 99. Esta modificación encuentra soporte en la pagina 113 de la descripción como fue originalmente presentada, en donde se muestra la secuencia de aminoácidos de la CDR en mención.
- Se corrigió la redacción de las reivindicaciones 1 y 9.

Estas modificaciones no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud, y se realizan con el fin de definir la materia reclamada de forma clara y superar las objeciones planteadas por el examinador en su concepto técnico.

2. Pago de tasas

Considerando que el presente memorial se presenta junto con modificaciones a las reivindicaciones, a la descripción y al listado de secuencias, se adjunta recibo por concepto de pago de tasa de modificación a la solicitud, según lo establecido en la **Resolución 59669 de 2020**.

Ahora, en relación con el número de reivindicaciones, atentamente me permito resaltar que junto a la presente respuesta no se realiza el pago de la tasa por concepto reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio tiene el mismo número de cláusulas que el presentado anteriormente.

3. Claridad y concisión de las reivindicaciones

El solicitante manifiesta que mediante la presentación del nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas las objeciones presentadas por el examinador en su concepto técnico, de modo tal que las nuevas reivindicaciones reclaman de manera clara y concisa la invención descrita. Con respecto a las objeciones específicas del examinador, me permito manifestar lo siguiente:

- 3.1** El examinador señala que las reivindicaciones 1 y 9 no son claras porque mencionan que la CDR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. No obstante, la descripción y el listado de secuencias, demuestran que dicha secuencia de aminoácidos no corresponde a la CDR2 sino a la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) del clon 2E7.

Frente a lo anterior, amablemente me permito señalar que el error señalado por el examinador con respecto al número de la secuencia correspondiente al CDR2 de la cadena pesada del clon 2E7 fue corregido por medio de la modificación al listado de secuencias, a la descripción y a las reivindicaciones. De esta manera, las nuevas reivindicaciones 1 y 9 indican que dicha CDR corresponde a la SEQ ID NO: 99.

3.2 De otro lado, el examinador señala que las reivindicaciones 4 a 7 no son claras porque no definen una célula en términos de una línea celular.

Al respecto, el solicitante quisiera manifestar que, contrario a lo señalado por el examinador, las reivindicaciones 4 a 7 son completamente claras para la persona normalmente en la materia, quien estaría en capacidad de entender que una célula que comprende un vector que incluye un polinucleótido que codifica un receptor de antígeno quimérico, es una célula modificada, separándola de las células encontradas en la naturaleza. Asimismo, dado que las reivindicaciones establecen que dicha célula está aislada, la persona normalmente versada en la materia entiende que no hacen parte de un organismo. Este hecho fue reconocido por el examinador durante el estudio de la solicitud parental (NC2018/0011804) en donde se aceptó la definición de las células de la invención como *célula inmunitaria aisladas*.

En vista de lo anterior, el solicitante desea mantener la redacción de las reivindicaciones sin modificaciones, y amablemente solicita que se reconsidere la objeción a este respecto.

En vista de lo anterior, las objeciones relacionadas con la claridad, la concisión y el soporte en la descripción del capítulo reivindicatorio, han quedado completamente superadas.

4. Descripción

El examinador establece en su concepto técnico que el capítulo descriptivo no es claro porque presenta inconsistencias relacionadas con la secuencia característica de la CDR2 de la región variable de cadena pesada del clon 2E7.

En respuesta a esta objeción, me permito señalar que la presente solicitud ha sido modificada para corregir dichas deficiencias. En particular, se incluyó una nueva secuencia (SEQ ID NO: 99) la cual corresponde a la secuencia de aminoácidos de la CDR-H" del clon 2E7 señalada por el examinador en su objeción. Asimismo, se corrigió

la referencia a la secuencia correspondiente a lo largo de la descripción. Por lo tanto, amablemente solicito que se de por superada la objeción en este sentido.

5. Nivel Inventivo

El examinador establece en su concepto técnico que las antiguas reivindicaciones 1 a 10, no cumplirían con el requisito de nivel inventivo a la luz de la combinación de las enseñanzas del documento D1: WO2015142675 y D2: WO2016016859.

Con respecto, a lo anterior, me permito resaltar las disposiciones del artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, que establecen que *"se considerará que la invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica"*.

Lo anterior significa que el análisis de nivel inventivo **NO** es una comparación de los objetos de las anterioridades y la solicitud en estudio. Por el contrario, el análisis de nivel inventivo **debe demostrar** la obviedad de la invención y establecer cómo ésta **no** contiene un salto cualitativo, que demuestre su altura inventiva, teniendo en cuenta que se hace **necesario demostrar** que la invención analizada carece de nivel inventivo y hubiese sido obvia para una persona versada en la materia.

Ahora bien, dichas condiciones no se cumplen para el caso en cuestión, pues, tal como se mostrará más adelante, las enseñanzas del estado de la técnica representadas en los documentos D1 y D2, no anticipan ni sugieren la invención con todas sus características técnicas, y, por lo tanto, la materia reclamada es inventiva a la luz del arte previo.

El análisis desarrollado por el examinador

El examinador señala que D1 es el documento más cercano a la antigua reivindicación 1, ya que divulga un receptor de un antígeno quimérico (CAR) aislado que comprende un dominio de unión a antígeno, un dominio transmembrana y un dominio de

señalización intracelular, en el que dicho dominio de unión a antígeno se une a un antígeno tumoral tal como FLT3.

El examinador señala que la diferencia entre la composición de D1 y la invención de la reivindicación 1 consiste en la estructura de las tres regiones determinantes de complementariedad (CDRs) de la región variable de cadena pesada (VH) SEQ ID NOs: 17, 26 y 27; y las tres CDRs de la región variable de cadena ligera (VL) SEQ ID NOs: 30, 31 y 32 del dominio de unión al antígeno que se une específicamente a FLT3 reivindicado.

El examinador indica que, dado que no se tiene certeza de cuál es la secuencia de aminoácidos específica que caracteriza la CDR-H2, no es posible asociar los datos de la descripción a la materia reclamada.

Por lo tanto, señala que el problema técnico objetivo de la presente solicitud se relaciona con la necesidad de proporcionar un receptor de antígeno quimérico (CAR) alternativo al divulgado en D1.

Sin embargo, el examinador considera que el documento D2 ya divulgaba un dominio scFv de unión a FLT3 que comprende la SEQ ID NO: 944 (Pág. 35, Párr. 3) el cual comprende con 100% de identidad y cobertura las CDRs 1 a 3 de la VH de SEQ ID NO: 17, 26 y 27; y las CDRs 1 a 3 de la VL de SEQ ID NO: 30 a 32 del Clon 2E7 reivindicadas.

En consecuencia, el examinador considera que la materia reclamada en las reivindicaciones 1 a 10 sería obvia a la luz de la combinación de las enseñanzas de D1 y D2.

Al respecto, me permito señalar mi desacuerdo con el examinador, toda vez que la materia definida en el nuevo capítulo reivindicatorio no podría derivarse de manera obvia a partir de la divulgación de los documentos D1 y D2, solos o en combinación.

Características de la invención

En primer lugar me permito resaltar que la invención, según se define en las nuevas reivindicaciones 1, se refiere a un receptor de un antígeno quimérico (CAR) que comprende una molécula de unión al antígeno que se une específicamente a FLT3 que comprende:

- a) una CDR1-VH de secuencia SEQ ID NO: 17;
- b) una CDR2-VH de secuencia SEQ ID NO: 99;
- c) una CDR3-VH de secuencia SEQ ID NO: 27;
- d) una CDR1-VL de secuencia SEQ ID NO: 30;
- e) una CDR2-VL de secuencia SEQ ID NO: 31; y
- f) una CDR3-VL de secuencia SEQ ID:32,

que comprende además:

- un dominio coestimulante de CD28 que comprende una secuencia SEQ ID NO: 2; o
- un dominio coestimulante de CD8 comprendiendo una secuencia SEQ ID NO: 14;

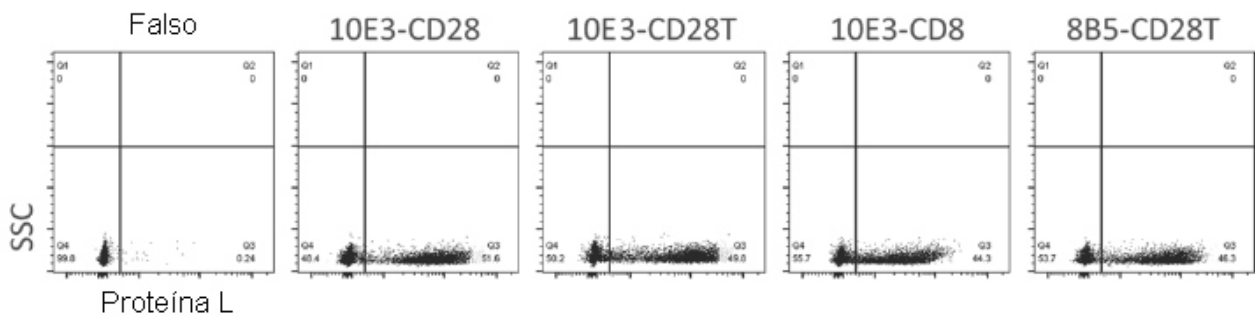
y en donde el dominio activador comprende CD3 zeta de secuencia SEQ ID NO: 10.

Tal como se puede evidenciar, la reivindicación independiente hace referencia a que el dominio coestimulador de CD28 que comprende una secuencia SEQ ID NO: 2, la cual es una forma truncada de CD28 que demostró una mejora notable en la reducción de la carga tumoral en todos los puntos de tiempo examinados.

Las diferencias de D1 con la invención y el efecto técnico derivado

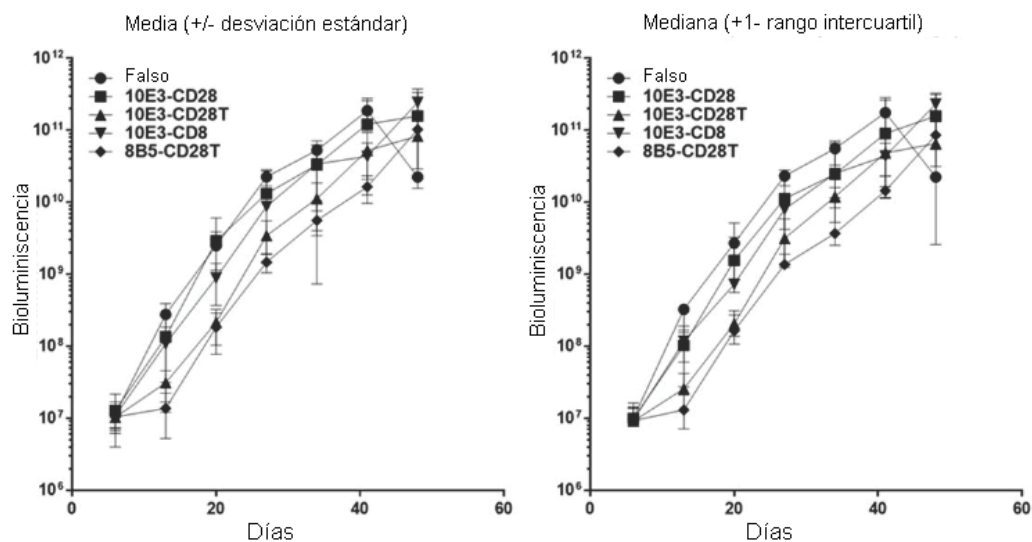
Tal como lo señala el examinador, el documento D1 no divulga las secuencias características del receptor de antígenos reclamado, el cual ha demostrado tener efectos técnicos sorprendente.

Tal como se indica en la descripción, en el Ejemplo 7 se evaluó la actividad anti leucémica *in vivo*, y para ello se generaron células T CAR FLT3 de utilidad en un modelo xenogénico de AML humana. La expresión de CAR de las diversas líneas efectoras usadas en el modelo xenogénico de AML humana se muestran en la figura 9 de la solicitud, la cual se reproduce a continuación para su mejor referencia:



Se inyectaron células MV4;11 marcadas con luciferasa (2×10^6 /animal) por vía intravenosa en ratones NSG hembra de 5 a 6 semanas de vida. Después de 6 días, se inyectaron 6×10^6 células T ($\sim 50\%$ de CAR+) en 200 μ l de PBS por vía intravenosa y se midió la carga tumoral de los animales semanalmente usando obtención de imágenes por bioluminiscencia.

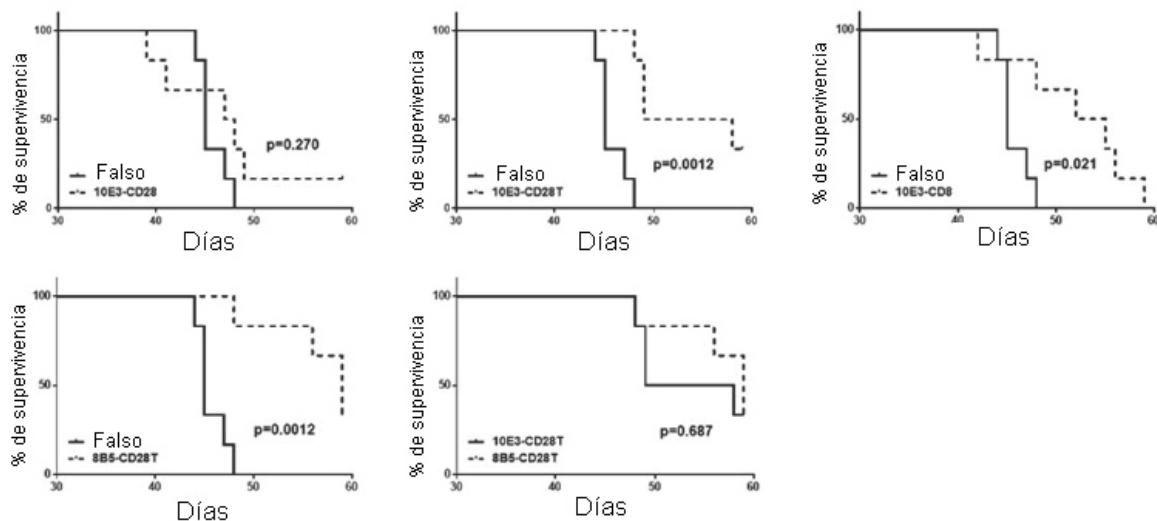
Según se muestra en la FIGURA 10 (la cual se reproduce a continuación), la inyección de células T CAR que expresan 10E3-CD28T y 8B5-CD28T redujo significativamente la carga tumoral en todos los puntos de tiempo examinados.



Valores p

Día	Falso vs 10E3-CD28	Falso vs 10E3-CD28T	Falso vs 10E3-CD8	Falso vs 8B5-CD28T	10E3-CD28T vs 8B5-CD28T
6	0.756	0.657	0.832	0.690	0.959
13	0.067	0.0004	0.014	0.0002	0.028
20	0.777	0.0022	0.022	0.0020	0.639
27	0.158	<0.0001	0.0036	<0.0001	0.042
34	0.200	0.0004	0.188	0.0001	0.142
41	0.376	0.0072	0.0034	0.0009	0.054

Un análisis de supervivencia mostrado en la FIGURA 11 (mostrada a continuación), confirma lo anterior, en donde se observa que la inyección de las células T CAR que expresan 10E3-CD28T o 8B5-CD28T confiere una ventaja de supervivencia significativa con respecto a los animales que recibieron las células transducidas ficticiamente o células T CAR que expresan las construcciones 10E3-CD28 o 10E3-CD8. No se observaron diferencias significativas entre las construcciones 10E3-CD28T y 8B5-CD28T en términos de eficacia.



D2 no supe las diferencias entre la invención y D1

Ahora bien, tal como puede observarse del cuadro comparativo, el documento D2 no proporciona las sugerencias necesarias para que la persona normalmente versada en

la materia obtenga un CAR con las características establecidas en el nuevo capítulo reivindicatorio. En particular, el documento falla en proporcionar alguna indicación que permita a la persona normalmente versada a seleccionar las secuencias de aminoácidos tanto de la molécula de unión a antígeno, como del dominio coestimulante y del dominio activador. Además, la persona normalmente versada, no encontraría en D2 una sugerencia del efecto técnico inesperado asociado a los CAR con las características técnicas mencionadas en la nueva reivindicación 1.

Por lo tanto, el documento D2 no suplen las falencias del documento D1, ya que no presentan ninguna enseñanza que permita a la persona normalmente versada en la materia llegar a un cepillo de dientes con las características técnicas reclamadas.

Por lo tanto, el objeto reivindicado no puede considerarse obvio y, por lo tanto, cumple con los requisitos de los artículos 16 y 18 de la Decisión 486 de 2000.

6. Conclusión

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

- i) El nuevo pliego reivindicatorio, la nueva descripción y el nuevo listado de secuencias se ajusta a las disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486/00;
- ii) La invención de la presente solicitud es clara y cuenta con el debido sustento en el capítulo descriptivo, a la vez que se encuentra divulgada de manera suficientemente completa, cumpliendo así con los requerimientos de los Artículos 30 y 28 de la Decisión 486;
- iii) La invención de la presente solicitud no resulta obvia ni se derivada de manera evidente del estado de la técnica, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 18 de la Decisión 486.

Por tanto, atentamente me permito solicitar a ese Despacho otorgar el privilegio de patente solicitado a la solicitud en estudio, toda vez que cumple a cabalidad con los requerimientos de la Decisión 486 de 2000.

Asimismo, respetuosamente solicito a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

7. Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por diez (10) reivindicaciones.
- Recibo de pago por concepto de modificaciones voluntarias.

Señora Directora,



CAROLINA DAZA MONTALVO

C.C. 66.783.790 de Palmira Valle

TP-141563 CSJ

notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Un receptor de un antígeno quimérico que comprende una molécula de unión al antígeno que se une específicamente a FLT3, caracterizado porque la molécula de unión al antígeno comprende:

a) una CDR1 de la cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 17;

b) una CDR2 de la cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 99;

c) una CDR3 de la cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 27;

d) una CDR1 de la cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 30;

e) una CDR2 de la cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 31; y

f) una CDR3 de la cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos SEQ ID:32,

que comprende además un dominio coestimulante de CD28 comprendiendo una secuencia SEQ ID NO: 2, o un dominio coestimulante de CD8 comprendiendo una secuencia SEQ ID NO: 14; y en donde el dominio activador comprende CD3 zeta, en donde el CD3 zeta comprende una secuencia SEQ ID NO: 10.

2. Un polinucleótido, caracterizado porque codifica el receptor del antígeno quimérico de la reivindicación 1.

3. Un vector que comprende al polinucleótido de la reivindicación 2, en donde el vector es un vector retrovílico, un vector de ADN, un plásmido, un vector de ARN, un vector adenoviral, un vector asociado a adenovirus, un vector lentiviral o cualquier combinación de los mismos.

4. Una célula inmunitaria aislada, caracterizada porque comprende el vector de la reivindicación 3.

5. La célula inmunitaria aislada de conformidad con la reivindicación 4,

caracterizada porque la célula inmunitaria es una célula T, un linfocito infiltrante de tumores (TIL), una célula NK, una célula que expresa TCR, una célula dendrítica o una célula T NK.

6. La célula inmunitaria aislada de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque la célula es una célula T autóloga.

7. La célula inmunitaria aislada de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque la célula es una célula T alogénica.

8. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende una célula inmunitaria aislada de la reivindicación 4.

9. El receptor de antígeno quimérico de la reivindicación 1, en el que la molécula de unión al antígeno comprende:

- g) una CDR1 de cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17;
- h) una CDR2 de cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99;
- i) una CDR3 de cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27;
- j) una CDR1 de cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30;
- k) una CDR2 de cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31; y
- l) una CDR3 de cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID: 32,

que comprende además el dominio coestimulante de CD28 que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 2, y la secuencia CD3 zeta de SEQ ID NO: 10.

10. El receptor de antígeno quimérico de la reivindicación 9, en el que la molécula de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO: 26 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO: 29.

**RECEPTOR DE ANTÍGENO QUIMÉRICO QUE COMPRENDE UN DOMINIO DE
UNIÓN A FLT3 DERIVADO DEL CLON 2E7**

5

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La leucemia mieloide aguda (AML) es una forma maligna hematológica heterogénea que es el tipo más común de leucemia aguda diagnosticada en adultos. La AML representa aproximadamente un tercio de todas las leucemias, con una
10 estimación de 14.500 casos nuevos informados en el 2013 en solamente en los EE. UU. y presenta índices de supervivencia globales pobres. Ha habido pocas mejoras en los estándares de cuidado de los pacientes con AML durante los últimos treinta años. Sin embargo, avances recientes en la biología molecular
15 y celular han revolucionado nuestra comprensión de la hematopoyesis humana, tanto en estados normales como de enfermedad.

Se han identificado varios protagonistas clave en la patogénesis de la enfermedad y se pueden investigar como
20 blancos accionables. Uno de dichos genes "impulsores" activadores que se muta con mayor frecuencia en aproximadamente un 30% de AML es el FLT3.

La tirosina quinasa tipo Fms 3 (FLT3) también conocida

como quinasa hepática fetal 2 (FLK-2), quinasa de células madre humana 1 (SCK-1) o antígeno de la agrupación de Clúster de diferenciación (CD135), es una tirosina quinasa de receptores hematopoyética que se clonó mediante dos grupos independientes en la década de 1990. El gen FLT3, ubicado en el cromosoma 13q12 en humanos codifica una proteína tirosina quinasa de receptores de Clase III que comparte homología con otros miembros de la familia Clase III que incluyen el receptor del factor de células madre (c-KIT), el receptor del factor estimulante de colonias de macrófagos (FMS) y el receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR).

Tras la unión con el ligando del FLT3, el receptor FLT3 sufre una homodimerización que permite la autofosforilación de residuos tirosina específicos en el dominio yuxtamembrana y la activación corriente a través de las vías PI3K/Akt, MAPK y STAT5. Por lo tanto, FLT3 cumple un rol crítico en el control de la proliferación, supervivencia y diferenciación de las células hematopoyéticas normales.

El FLT3 humano se expresa en las células madre hematopoyéticas CD34+CD38- (HSC), así como en un subconjunto de células precursoras dendríticas. La expresión de FLT3 también se puede detectar en células progenitoras multipotenciales tales como las células progenitoras

mieloides comunes CD34⁺CD38⁺CD45RA⁻CD123^{bajo} (CMP), células progenitoras de monocitos y granulocitos CD34⁺CD38⁺CD45RA⁺CD123^{bajo} (GMP) y células progenitoras linfoides comunes CD34⁺CD38⁺CD10⁺CD19⁻ (CLP). Curiosamente, la expresión de FLT3 prácticamente es inexistente en las células progenitoras de eritrocitos megacariocitos CD34⁺CD38⁻CD45RA⁻CD123⁻ (MEP). Por consiguiente, la expresión de FLT3 está confinada principalmente a las células progenitoras mieloides y linfoides tempranas con alguna expresión en las células del linaje monocítico más maduro. Este patrón de expresión limitado de FLT3 es notablemente contrario al patrón del ligando de FLT3, que se expresa en la mayoría de los tejidos hematopoyéticos y de próstata, riñón, pulmón, colon y corazón. Estos patrones de expresión variados implican que la expresión de FLT3 es el paso limitante de velocidad en la determinación de la especificidad tisular de las vías de señalización del FLT3.

La mutación más común del FLT3 en la AML es la duplicación en tándem interna FLT3 (FLT3-ITD) que se observa en un 20 a 38% de los pacientes con una AML citogenéticamente normal. Las FLT3-ITD se forman cuando una porción de la secuencia codificante del dominio de yuxtamembrana se duplica y se inserta con una orientación de cabeza a cola. No se han identificado mutaciones FLT3 en los pacientes con una

leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma no Hodgkin y mieloma múltiple lo cual sugiere una fuerte especificidad de enfermedad por la AML. La activación del FLT3 mutante generalmente se observa en todos los subtipos de FAB, no obstante, está aumentada significativamente en los pacientes con AML con FAB M5 (leucemia monocítica), en tanto los subtipos M2 y M6 de FAB (leucemia granulocítica o eritroide) están asociados con una frecuencia significativamente menor con la activación del FLT3, en concordancia con patrones de expresión normales de FLT3. Un pequeño porcentaje de pacientes con AML (5-7%) presentan mutaciones de aminoácido individuales en el dominio tirosina quinasa de FLT3 (FLT3 TKD), más comúnmente en D835 o, en algunos casos, en T842 o I836, en tanto aún menos pacientes (~1%) contienen mutaciones en el dominio de yuxtamembrana del FLT3 que involucran los residuos 579, 590, 591 y 594. Los pacientes con una AML mutante FLT3-ITD presentan una forma de enfermedad agresiva caracterizada por recaídas tempranas y una supervivencia pobre, en tanto la supervivencia global y la supervivencia libre de eventos no están afectadas significativamente por la presencia de mutaciones FLT3-TKD. Además, los pacientes que padecen una AML con una mutación FLT3-ITD, con las mutaciones concurrentes TET2 o DNMT3A, tienen un perfil de riesgo global desfavorable en comparación con los pacientes con AML

mutantes FLT3-ITD con TET2 o DNMT3A de tipo silvestre, lo que enfatiza la heterogeneidad clínica y biológica de la AML.

Ambas mutaciones FLT3-ITD y FLT3 TKD inducen una activación independiente del ligando del FLT3, lo que conduce a una activación corriente abajo de la vía Ras/MAPK y las vías PI3K/Akt. Sin embargo, las vías de señalización corriente abajo asociadas con cualquiera de las mutaciones difieren primariamente en la activación preferencial de STAT5 por FLT3-ITD, lo que conduce a un mayor potencial de proliferación y una regulación aberrante de las vías de reparación de ADN.

Independientemente del estado de la mutación del FLT3, la fosforilación del FLT3 es evidente en más de dos tercios de los pacientes con AML y el FLT3 se expresa en >80% de los blastos de AML y en ~90% de todos los pacientes con AML volviéndolo un blanco terapéutico atractivo asociado con la patogénesis de la enfermedad en un tamaño de muestra grande.

Han surgido varios inhibidores de moléculas pequeñas como opciones terapéuticas atractivas para los pacientes con AML que presentan mutaciones del FLT3. La primera generación de inhibidores de tirosina quinasa de FLT3 (TKI) se caracterizó por la falta de selectividad, potencia y propiedades farmacocinéticas desfavorables. Se han desarrollado agentes más nuevos y más selectivos para

combatir este problema; sin embargo, su eficacia ha sido limitada por la aparición de resistencia secundaria.

Varios FLT3 TKI tempranos incluían midostaurina (PKC412), lestaurtinib (CEP-701), sunitinib (SUI1248) y sorafinib (BAY 43-9006) entre otros. Los índices de respuesta en la Fase I y la Fase II con estos agentes dirigidos a múltiples quinasas en pacientes con AML recidivante o refractario son limitados, presumiblemente debido a su incapacidad para lograr una inhibición eficaz de FLT3 sin toxicidades limitantes por la dosis. El quizartinib (AC220) fue desarrollado como un FLT3 TKI de segunda generación con una gran selectividad por el FLT3 de tipo silvestre y FLT3-ITD y se ha demostrado que es beneficioso en especial en el marco de peritransplantes en una cohorte de pacientes más jóvenes. Sin embargo, las mutaciones secundarias en el FLT3 identificados en los pacientes recidivantes que recibieron quizartinib refuerzan la necesidad de desarrollar mejores estrategias terapéuticas para los pacientes con AML, resaltando al mismo tiempo la validez de FLT3 como un blanco terapéutico.

Se han evaluado varios agentes dirigidos en pacientes con AML que padecen la enfermedad de novo, recidivante/refractaria o secundaria. El silenciamiento epigenético de los genes supresores de tumores cumple un rol

importante en la patogénesis de la AML, y los inhibidores de la ADN metiltransferasa (DNMT), como azacitadina y decitabina, han tenido cierto éxito clínico. Además, la identificación reciente de mutaciones que afectan las modificaciones de postraducción de histonas (por ejemplo, las mutaciones EZH2 y ASXL1) o la metilación de ADN (por ejemplo, DNMT3A, TET2, IDH1/2) en un subconjunto de pacientes con AML ha conducido al desarrollo de una variedad de opciones terapéuticas que incluyen inhibidores de EZH2, DOT1L, IDH1/2 junto con HDAC e inhibidores de proteasomas. Sin embargo, estudios preclínicos de muchos de estos compuestos en células de AML sugieren que estos inhibidores pueden estar alterando el fenotipo y la expresión genética que son características de una diferenciación hematopoyética en lugar de causar una citotoxicidad directa para los blastos de AML. Por ello persiste una fuerte necesidad médica no satisfecha de identificar nuevos blancos/modalidades para combatir la AML y causar una lisis dirigida de blastos de AML. Otros candidatos terapéuticos de la AML incluyen los inhibidores de Aurora quinasa que incluyen AMG 900 y los inhibidores de quinasas tipo polo que cumplen un rol importante en el progreso del ciclo celular.

El estándar de cuidado para los pacientes con AML ha continuado siendo quimioterapia con trasplante de células

madre cuando fuera posible. Sin embargo, la aparición de casos recidivantes/refractarios en una gran mayoría de los pacientes tratados requiere de modalidades terapéuticas adicionales. La identificación y descripción de varios antígenos específicos de leucemia junto con una comprensión más clara de efectos de injerto-versus-leucemia mediados por el sistema inmunológico han preparado el camino para desarrollar estrategias inmunomoduladoras para combatir formas malignas hematológicas, que se revisan en numerosos artículos.

Se ha demostrado que las células inmunitarias modificadas presentan las cualidades deseadas en los tratamientos terapéuticos, en particular en oncología. Dos tipos fundamentales de células inmunitarias modificadas son aquellas que contienen receptores de antígenos quiméricos (denominados "CAR" o "CAR-T") y receptores de células T ("TCR"). Estas células modificadas fueron manipuladas para conferirles con especificidad por el antígeno al tiempo que retiene o mejora su capacidad para reconocer y matar una célula blanca. Los receptores de antígenos quiméricos pueden comprender, por ejemplo, (i) un componente específico del antígeno ("molécula de unión al antígeno"), (ii) uno o más dominios coestimulantes y (iii) uno o más dominios activadores. Cada dominio puede ser heterogéneo, es decir,

puede estar compuesto por secuencias derivadas de diferentes cadenas proteicas. Las células inmunitarias que expresan un receptor del antígeno quimérico (tales como las células T) se pueden usar en varias terapias, inclusive en terapias contra el cáncer. Se podrá apreciar que los polipéptidos coestimulantes definidos en la presente se pueden usar para aumentar la activación de células que expresan CAR contra los antígenos blanco, y por ello aumentar la potencia de una inmunoterapia adoptiva.

Las células T se pueden modificar para que sean específicos de uno o más blancos deseados. Por ejemplo, se pueden transducir células T con ADN u otro material genético que codifica una molécula de unión al antígeno, tal como uno o más fragmentos simples de cadenas variables ("scFv") de un anticuerpo, junto con una o más moléculas de señalización, y/o uno o más dominios activadores, tal como CD3 zeta.

Además de la capacidad de las células T CAR para reconocer y destruir las células buscadas, una terapia exitosa con células T se podría beneficiar con la capacidad de las células T CAR para persistir y mantener la capacidad de proliferar como respuesta a un antígeno.

Los receptores de células T (TCR) son moléculas presentes sobre la superficie de células T que son responsables del reconocimiento de fragmentos de antígeno

como péptidos unidos a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). El TCR está compuesto por dos cadenas proteicas diferentes - en aproximadamente el 95% de los TCR humanos, donde el TCR consiste en una cadena alfa (α) y una cadena beta (β). En aproximadamente el 5% de las células T humanas el TCR consiste en cadenas gamma y delta (γ/δ). Cada cadena está compuesta por dos dominios extracelulares: una región variable (V) y una región constante (C), ambas de la superfamilia de inmunoglobulinas. Al igual que en otras inmunoglobulinas, los dominios variables de la cadena α y la cadena β (o las cadenas gamma y delta (γ/δ)) de TCR tienen cada uno tres regiones hipervariables o determinantes de complementariedad (CDR). Cuando el TCR se une con péptido antigénico y MHC (péptido/MHC), la célula T se activa, permitiendo que ataquen y destruyan las células diana.

Sin embargo, las terapias actuales han mostrado niveles variables de eficacia con efectos secundarios indeseados. Por ello, existe la necesidad de identificar terapias nuevas y mejoradas para el tratamiento de enfermedades y trastornos relacionados con FLT3.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La invención se relaciona con células inmunitarias modificadas (tales como CAR o TCR), moléculas de unión a

antígenos (que incluyen, pero en un sentido no taxativo, anticuerpos, scFv, cadenas pesadas y/o livianas y CDR de estas moléculas de unión a antígenos) con especificidad por FLT3.

La invención también se relaciona con una nueva secuencia de CD28 de utilidad como un dominio coestimulante en estas células.

Los receptores de antígenos quiméricos de la invención típicamente comprenden: (i) una molécula de unión al antígeno específica de FLT3, (ii) uno o más dominios coestimulantes y (iii) uno o más dominios activadores. Se podrá apreciar que cada dominio puede ser heterogéneo, por consiguiente, puede estar compuesto por secuencias derivadas de diferentes cadenas proteicas.

En algunas formas de realización, la invención se relaciona con un receptor de un antígeno quimérico que comprende una molécula de unión al antígeno que se une específicamente a FLT3, en donde la molécula de unión al antígeno comprende por lo menos uno entre: (a) una CDR1 de la cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de la SEQ ID NO: 17 en no más de 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos; (b) una CDR2 de la cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de la SEQ ID NO:

18 o la SEQ ID NO: 99 en no más de 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos; (c) una CDR3 de la cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de la SEQ ID NO: 19 o la SEQ ID NO: 27 en no más de 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos; (d) una CDR1 de la cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de la SEQ ID NO: 22 o la SEQ ID NO: 30 en no más de 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos; (e) una CDR2 de la cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de la SEQ ID NO: 23 o 31 en no más de 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos; (f) una CDR3 de la cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de la SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 32 en no más de 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos.

En otras formas de realización, el receptor del antígeno quimérico también comprende por lo menos un dominio coestimulante. En otras formas de realización, el receptor del antígeno quimérico comprende además por lo menos un dominio activador.

En determinadas formas de realización, el dominio coestimulante es una región de señalización de CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada-1 (PD-1), un coestimulante inducible de células T

(ICOS), un antígeno asociado a la función de linfocitos-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, un receptor de Fc gamma, una molécula MHC clase 1, proteínas receptoras de TNF, una proteína inmunoglobulina, un receptor de citoquina, integrinas, moléculas linfocitarias activadoras de señales (proteínas SLAM), receptores activadores de células NK, BTLA, un receptor del ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFRR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1 1a, LFA-1, ITGAM, CD1 1b, ITGAX, CD1 1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente a CD83 o cualquier combinación de los mismos.

En algunas formas de realización, el dominio coestimulante deriva de 4-1BB. En otras formas de realización, el dominio coestimulante deriva de OX40. Véase

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

En determinadas formas de realización, el dominio coestimulante CD28 comprende la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 8. En formas de realización adicionales, el dominio coestimulante de CD8 comprende la SEQ ID NO: 14. En otras formas de realización, el dominio activador comprende CD3, CD3 zeta o CD3 zeta cuya secuencia se ilustra en la SEQ ID NO: 10.

En otras formas de realización, la invención se relaciona con un receptor de un antígeno quimérico en donde el dominio coestimulante comprende la SEQ ID NO: 2 y el dominio activador comprende la SEQ ID NO: 10.

La invención se relaciona además con polinucleótidos que codifican los receptores de antígenos quiméricos, y con vectores que comprenden a los polinucleótidos. El vector puede ser, por ejemplo, un vector retroviral, un vector de ADN, un plásmido, un vector de ARN, un vector adenoviral, un

vector asociado a adenovirus, un vector lentiviral o cualquier combinación de estos. La invención también se relaciona con las células inmunitarias que comprenden los vectores. En algunas formas de realización, el vector lentiviral es un vector pGAR.

Los ejemplos de células inmunitarias incluyen, pero en un sentido no taxativo células T, linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), células NK, Células que expresan TCR, células dendríticas o células T NK. Las células T pueden ser autólogas, alogénicas o heterólogas. En otras formas de realización, la invención se relaciona con composiciones farmacéuticas que comprenden las células inmunitarias que se describen en la presente.

En determinadas formas de realización, la invención se relaciona con moléculas de unión a antígenos (y receptores de antígenos quiméricos que comprenden estas moléculas) que comprenden por lo menos uno entre:

(a) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 10E3 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 10E3 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos;

(b) una región VH que difiere de la secuencia de

aminoácidos de la región VH de 2E7 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 2E7 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos;

(c) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 8B5 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 8B5 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos;

(d) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 4E9 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 4E9 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos; y

(e) una región VH que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VH de 11F11 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos y una región VL que difiere de la secuencia de aminoácidos de la región VL de 10E3 en no más de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 residuos de aminoácidos;

y en donde la o las regiones VH y VL están ligados por

al menos un conector.

En otras formas de realización, la invención se relaciona con moléculas de unión a antígenos (y receptores de antígenos quiméricos que comprenden estas moléculas), en donde el conector comprende por lo menos uno entre el conector scFv G4S y el conector scFv Whitlow.

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

En otras formas de realización, la invención se relaciona con polinucleótidos aislados que codifican un receptor de un antígeno quimérico (CAR) o un receptor de células T (TCR) que comprende una molécula de unión al antígeno que se une específicamente a FLT3, en donde la molécula de unión al antígeno comprende una CDR3 de la cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 o la SEQ ID NO: 27. Los polinucleótidos también pueden comprender un dominio activador. En formas de realización preferidas, el dominio

activador es CD3, más preferiblemente CD3 zeta, más preferiblemente la secuencia de aminoácidos que se ilustra en la SEQ ID NO: 9.

En otras formas de realización, la invención incluye un dominio coestimulante, tal como CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (alfa, beta, delta, épsilon, gamma, zeta), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD 33, CD37, CD40, CD 45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, PD-1, ICOS, un antígeno asociado a la función de linfocitos-1 (LFA-1 (CD1 1a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (un miembro de la superfamilia de factores de necrosis tumoral 14; TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, un receptor de Fc gamma, una molécula MHC clase I, TNF, TNFr, una integrina, una molécula linfocitaria activadora de señales, BTLA, un receptor de ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD1-1d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1-1a, LFA-1, ITGAM, CD1-1b, ITGAX, CD1-1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150,

IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando CD83 o fragmentos o combinaciones de los mismos. Los dominios coestimulantes preferidos se indicarán más adelante en la presente.

En otras formas de realización, la invención se relaciona con polinucleótidos aislados que codifican un receptor de un antígeno quimérico (CAR) o un receptor de células T (TCR), en donde dicho CAR o TCR comprende una molécula de unión al antígeno que se une específicamente a FLT3, y en donde la molécula de unión al antígeno comprende una CDR3 de la cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionado entre la SEQ ID NO: 24 y la SEQ ID NO: 32. El polinucleótido puede comprender además un dominio activador. El polinucleótido también puede comprender un dominio coestimulante.

En otras formas de realización, la invención se relaciona con polinucleótidos aislados que codifican un receptor de un antígeno quimérico (CAR) o un receptor de células T (TCR) que comprende una molécula de unión al antígeno que se une específicamente a FLT3, en donde la cadena pesada de la molécula de unión al antígeno comprende CDR1 (SEQ ID NO: 17), CDR2 (SEQ ID NO: 18) y CDR3 (SEQ ID NO: 19) y la cadena ligera de la molécula de unión al antígeno comprende CDR1 (SEQ ID NO: 22), CDR2 (SEQ ID NO: 23) y CDR3

(SEQ ID NO: 24).

En otras formas de realización, la invención se relaciona con polinucleótidos aislados que codifican un receptor de un antígeno quimérico (CAR) o un receptor de células T (TCR) que comprende una molécula de unión al antígeno que se une específicamente a FLT3, en donde la cadena pesada de la molécula de unión al antígeno comprende CDR1 (SEQ ID NO: 17), CDR2 (SEQ ID NO: 99) y CDR3 (SEQ ID NO: 27) y la cadena ligera de la molécula de unión al antígeno comprende CDR1 (SEQ ID NO: 30), CDR2 (SEQ ID NO: 31) y CDR3 (SEQ ID NO: 32).

La invención se relaciona además con moléculas de unión a antígenos para FLT3 que comprenden por lo menos una secuencia de la CDR3 de la cadena pesada variable o de la CDR3 de la cadena ligera variable como se describe en la presente. La invención se relaciona además con moléculas de unión a antígenos para FLT3 que comprenden por lo menos una secuencia de la CDR1, CDR2, y CDR3 de la cadena pesada variable como se describe en la presente. La invención se relaciona además con moléculas de unión a antígenos para FLT3 que comprenden por lo menos una secuencia de la CDR1, CDR2, y CDR3 de la cadena ligera variable como se describe en la presente. La invención se relaciona además con moléculas de unión a antígenos para FLT3 que comprenden tanto secuencias

de CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada variable como de CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera variable como se describe en la presente.

Otros dominios variables de la cadena pesada y liviana y secuencias de polinucleótidos y aminoácidos de CDR adecuadas para su uso en las moléculas de unión a FLT3 de acuerdo con la presente invención se pueden consultar en la Solicitud Provisional de Patente de los EE. UU. NO: 62/199.944, presentada el 31 de julio, 2015.

La invención se relaciona además con métodos de tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto que lo necesita que comprenden administrar al sujeto las moléculas de unión a antígenos, los CAR, los TCR, polinucleótidos, vectores, células o composiciones de acuerdo con la invención. Las enfermedades adecuadas para el tratamiento incluyen, pero en un sentido no taxativo, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mielogénica crónica (CML), leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia mielomonocítica juvenil, leucemia mieloide crónica atípica, leucemia promielocítica aguda (APL), leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroide aguda, leucemia megacarioblástica aguda, síndrome mielodisplásico (MDS), trastorno mieloproliferativo, neoplasia mieloide, sarcoma mieloide) o combinaciones de los mismos. Otras enfermedades incluyen

enfermedades inflamatorias y/o autoinmunitarias tales como artritis reumatoide, psoriasis, alergias, asma, enfermedad de Crohn, IBD, IBS, fibromialgia, mastocitosis y enfermedad celíaca.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

En la FIGURA 1 se muestra un análisis por citometría de flujo de la expresión de FLT3 sobre la superficie celular de líneas celulares humanas.

En la FIGURA 2 se muestra la expresión de CAR en células T primarias humanas sometidas a electroporación con ARNm que codifica diversos CAR.

En la FIGURA 3 se muestra la actividad citolítica de células T CAR sometidas a electroporación contra múltiples líneas celulares después de 16 horas de cocultivo.

En las FIGURAS 4A y 4B, se muestra la producción de IFN γ , IL-2 y TNF α por células T CAR sometidas a electroporación después de 16 horas de cocultivo con las líneas de células diana indicadas.

En la FIGURA 5 se muestra la expresión de CAR en células T primarias humanas transducidas con lentivirus de dos donantes sanos.

En la FIGURA 6 se muestra la actividad citolítica promedio en el tiempo de dos donantes sanos que expresan los CAR indicados cocultivados con diversas líneas de células

diana.

En la FIGURAS 7A, 7B y 7C, se muestra la producción de IFN γ , TNF α e IL-2 por células T CAR transducidas con lentivirus de dos donantes sanos después de 16 horas de cocultivo con las líneas de células diana indicadas.

En la FIGURA 8 se muestra la proliferación de células T CAR transducidas con lentivirus marcado con CFSE de dos donantes sanos después de 5 días de cocultivo con esferas CD3-CD28 o con las líneas de células diana indicadas.

En la FIGURA 9 se muestra la expresión de CAR en células T primarias humanas transducidas con lentivirus usadas para estudios *in vivo*.

En la FIGURA 10 se muestran imágenes de bioluminiscencia de células de leucemia mieloide aguda marcadas después de una inyección intravenosa de células T CAR en un modelo xenogénico.

En la FIGURA 11 se muestran curvas de supervivencia de ratones que recibieron inyecciones con células T CAR.

En la FIGURA 12 se muestra el mapa del vector pGAR.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Se podrá apreciar que los receptores de antígenos quiméricos (CAR o CAR-T) y los receptores de células T (TCR) son receptores modificados genéticamente. Estos receptores modificados se pueden insertar fácilmente y expresar en

células inmunitarias, que incluyen células T, de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica. Con un CAR, se puede programar un solo receptor para que reconozca un antígeno específico y, cuando está unido a dicho antígeno, activa la célula inmunitaria para que ataque y destruya la célula que contiene dicho antígeno. Cuando estos antígenos existen sobre células tumorales, una célula inmunitaria que expresa el CAR puede buscar y matar la célula tumoral.

Los CAR se pueden modificar para que se unan a un antígeno (tal como un antígeno de la superficie celular) mediante la incorporación de una molécula de unión al antígeno que interactúa con dicho antígeno buscado. Preferiblemente, la molécula de unión al antígeno es un fragmento de anticuerpo de este, y más preferiblemente uno o más fragmentos de anticuerpo de cadena simple ("scFv"). Un scFv es un fragmento de anticuerpo de cadena simple que tiene las regiones variables de las cadenas pesada y liviana de un anticuerpo unidas entre sí. Véase, las Patentes de EE. UU. NO: 7.741.465 y 6.319.494, así como Eshhar et al., *Cancer Immunol Immunotherapy* (1997) 45: 131-136. Un scFv retiene la capacidad del anticuerpo parental para interactuar específicamente con un antígeno blanco. Los scFv se prefieren para su uso en los receptores de antígenos quiméricos porque se pueden modificar para que se expresen como parte de una

sola cadena junto con los otros componentes del CAR. *Id.* Véase también Krause et al., *J. Exp. Med.*, Volumen 188, No. 4, 1998 (619-626); Finney et al., *Journal of Immunology*, 1998, 161: 2791-2797. Se podrá apreciar que la molécula de unión al antígeno típicamente está contenida en la porción extracelular del CAR de modo tal que pueda reconocer y unirse al antígeno de interés. Los CAR biespecíficos y multiespecíficos están contemplados dentro del alcance de la invención, con especificidad por más de un blanco de interés.

Dominios coestimulantes. Los receptores de antígenos quiméricos pueden incorporar dominios coestimulantes (señalización) para aumentar su potencia. Véase, las Patentes de EE. UU. NO: 7.741.465 y 6.319.494, así como Krause et al., y Finney et al., (*supra*), Song et al., *Blood* 119: 696-706 (2012); Kalos et al., *Sci Transl. Med.* 3: 95 (2011); Porter et al., *N. Engl. J. Med.* 365: 725-33 (2011) y Gross et al., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 56: 59-83 (2016). Por ejemplo, CD28 es una proteína coestimulante que se encuentra naturalmente sobre las células T. La secuencia de aminoácidos nativa completa de CD28 se describe en NCBI, secuencia de referencia: NP_006130.1. La secuencia de ácidos nucleicos nativa completa de CD28 se describe en NCBI, secuencia de referencia: NM_006139.1.

Se han utilizado algunos dominios CD28 en los receptores

de antígenos quiméricos. De acuerdo con la invención, ahora se ha encontrado que un nuevo dominio extracelular CD28, denominado "CD28T", provee inesperadamente algunos beneficios cuando se utiliza en una construcción CAR.

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

```
CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTCACGTGAAGGGCAAGCACCTCTG
TCCGTCACCCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGA
GTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCA
AAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCAC
AAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC
```

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

```
LDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFVVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFW
VRSK RSRLHSDYM NMTPRRPGPT RKHYQPYAPP RDFAAYRS
```

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

```
CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTCACGTGAAGGGCAAGCACCTCTG
TCCGTCACCCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCA
```

La secuencia de aminoácidos correspondiente del dominio CD28T extracelular se ilustra en la SEQ ID NO: 4: LDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSK

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

TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCAC
CGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTT

La secuencia de aminoácidos del dominio transmembrana CD28 se ilustra en la SEQ ID NO: 6:

FWVLVVVGGV LACYSLLVTV AFIIFWV

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

AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCG
CCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTAT
CGGAGC

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

RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

Otras secuencias CD28 adecuadas que son de utilidad en la invención incluyen la secuencia de nucleótidos CD28 que se ilustra en la SEQ ID NO: 11:

ATTGAGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACGGTACCAT
CATTACGTGAAAGGTAAACACCTGTGTCCTTCTCCCCTCTTCCCCGGGCCATCAAAGCCC

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

IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP

Otras secuencias extracelulares o transmembrana

adecuadas pueden derivar de CD8. La secuencia de nucleótidos de un dominio extracelular y transmembrana CD8 adecuado se ilustra en la SEQ ID NO: 13:

```
GCTGCAGCATTGAGCAACTCAATAATGTATTTTAGTCACTTTGTACCAGTGTTCCTT
GCCGGCTAAGCCTACTACCACACCCGCTCCACGGCCACCTACCCCAGCTCCTACCATCGCT
TCACAGCCTCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCTTGCCGACCGGCCGCAGGGGGCGCTGTTCATA
CCAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGCCGGAACCTGCGG
CGTACTCCTGCTGTCCCTGGTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGAAC
```

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

```
AAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG
AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN
```

Los dominios coestimulantes adecuados que se encuentran dentro del alcance de la invención pueden derivar, entre otras fuentes, de CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (alfa, beta, delta, épsilon, gamma, zeta), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD 33, CD37, CD40, CD 45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, PD-1, ICOS, un antígeno asociado a la función de linfocitos-1 (LFA-1 (CD1 1a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (miembro de la superfamilia de factores de necrosis tumoral 14; TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, un receptor de Fc gamma, una molécula MHC clase I, TNF, TNFr, una integrina, una molécula linfocitaria activadora de señales, BTLA, un receptor de ligando Toll,

ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD1-1d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1-1a, LFA-1, ITGAM, CD1-1b, ITGAX, CD1-1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando CD83 o fragmentos o combinaciones de los mismos.

Dominios activadores.

El CD3 es un elemento de los receptores de células T sobre células T nativas y se ha mostrado que es un importante elemento activador intracelular en los CAR. En una forma de realización preferida, el CD3 es CD3 zeta, cuya secuencia de nucleótidos se ilustra en la SEQ ID NO: 9:

```
AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCA
ACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGA
GGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATA
ATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCG
GAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACT
TATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG
```

La secuencia de aminoácidos correspondiente del CD3 zeta intracelular se ilustra en la SEQ ID NO: 10:

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPR
RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP
R

ORIENTACIÓN DEL DOMINIO

Desde un punto de vista estructural, se podrá apreciar que estos dominios corresponden a ubicaciones que tienen relación con la célula inmunitaria. Por lo tanto, estos dominios pueden formar parte de (i) la "bisagra" o dominio (EC) extracelular (EC), (ii) el dominio transmembrana (TM) y/o (iii) el dominio intracelular (citoplasmático) (IC). El componente intracelular con frecuencia comprende en parte un miembro de la familia CD3, preferiblemente CD3 zeta, que tiene la capacidad para activar la célula T tras la unión de la molécula de unión al antígeno con su blanco. En una forma de realización, el dominio de bisagra típicamente está compuesto de por lo menos un dominio coestimulante definido en la presente.

También se podrá apreciar que la región de bisagra también puede contener parte o algo de un miembro de la familia de inmunoglobulinas tales como IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgD, IgE, IgM o un fragmento de estas.

Los ejemplos de construcciones CAR de acuerdo con la

invención se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Nombre de la construcción	scFv	Dominios coestimulantes	Dominio activador
24C1 CD28T	24C1	CD28T	CD3 zeta
24C1 CD28	24C1	CD28	CD3 zeta
24C1 CD8	24C1	CD8	CD3 zeta
24C8 CD28T	24C8	CD28T	CD3 zeta
24C8 CD28	24C8	CD28	CD3 zeta
24C8 CD8	24C8	CD8	CD3 zeta
20C5,1 CD28T	20C5.1	CD28T	CD3 zeta
20C5,1 CD28	20C5.1	CD28	CD3 zeta
20C5,1 CD8	20C5.1	CD8	CD3 zeta
20C5,2 CD28T	20C5.2	CD28T	CD3 zeta
20C5,2 CD28	20C5.2	CD28	CD3 zeta
20C5,2 CD8	20C5.2	CD8	CD3 zeta

DOMINIOS RELACIONADOS CON LA CÉLULA

Se podrá apreciar que, con relación a la célula que lleva al receptor, las células T modificadas de la invención comprenden una molécula de unión al antígeno (tal como un scFv), un dominio extracelular (que puede comprender un dominio de "bisagra"), un dominio transmembrana y un dominio intracelular. El dominio intracelular comprende por lo menos en parte un dominio activador, preferiblemente compuesto por un miembro de la familia CD3 tales como CD3 zeta, CD3 épsilon, CD3 gamma o porciones de este. También se podrá

apreciar que la molécula de unión al antígeno (por ejemplo, uno o más scFv) se modifica de modo tal que se localiza en la porción extracelular de la molécula/construcción, de manera que pueda reconocer y unirse a sus blancos.

Dominio extracelular. El dominio extracelular es ventajoso para la señalización y para lograr una respuesta eficiente de linfocitos a un antígeno. Los dominios extracelulares de particular utilidad en esta invención pueden derivar (es decir, comprenden) de CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada-1 (PD-1), un coestimulante inducible de células T (ICOS), antígeno asociado a la función de linfocitos-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor de Fc gamma, una molécula MHC clase 1, proteínas receptoras de TNF, una proteína inmunoglobulina, receptor de citoquina, integrinas, moléculas linfocitarias activadoras de señales (proteínas SLAM), receptores activadores de células NK, BTLA, un receptor del ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD1

1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente a CD83 o cualquier combinación de los mismos. El dominio extracelular puede derivar de una fuente ya sea natural o sintética.

Como se describió en la presente, los dominios extracelulares a menudo comprenden una porción de bisagra. Esta es una porción del dominio extracelular, a menudo conocida como una región "espaciadora". Se puede emplear una variedad de bisagras de acuerdo con la invención, incluyendo las moléculas coestimulantes que se describieron antes, así como secuencias de inmunoglobulinas (Ig) u otras moléculas adecuadas para lograr la distancia especial deseada de las células diana. En algunas formas de realización, toda la región extracelular comprende una región de bisagra. En algunas formas de realización, la región de bisagra comprende CD28T o el dominio EC de CD28.

Dominio transmembrana. El CAR se puede diseñar para que comprenda un dominio transmembrana fusionado al dominio extracelular del CAR. De manera similar, se puede fusionar al

dominio intracelular del CAR. En una forma de realización, se usa el dominio transmembrana que naturalmente está asociado con uno de los dominios en un CAR. En algunos casos, el dominio transmembrana se puede seleccionar o modificar mediante sustitución de aminoácidos para evitar la unión de dichos dominios a los dominios transmembrana de las mismas proteínas de membrana de superficie o de proteínas diferentes para minimizar las interacciones con otros miembros del complejo receptor. El dominio transmembrana puede derivar de una fuente ya sea natural o sintética. Cuando la fuente es natural, el dominio puede derivar de cualquier proteína unida a membrana o transmembrana. Las regiones transmembrana de particular utilidad en esta invención pueden derivar (es decir, comprenden) de CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada-1 (PD-1), un coestimulante inducible de células T (ICOS), antígeno asociado a la función de linfocitos-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor de Fc gamma, una molécula MHC clase 1, proteínas receptoras de TNF, una proteína inmunoglobulina, receptor de citoquina, integrinas, moléculas linfocitarias activadoras de señales (proteínas SLAM), receptores activadores de células NK, BTLA, un receptor del ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1,

GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD1 1d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1 1a, LFA-1, ITGAM, CD1 1b, ITGAX, CD1 1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente a CD83 o cualquier combinación de los mismos.

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

En una forma de realización, el dominio transmembrana en el CAR de la invención es un dominio transmembrana CD8. En una forma de realización, el dominio transmembrana de CD8 comprende la porción transmembrana de la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 13. En otra forma de realización, el dominio transmembrana de CD8 comprende la secuencia de ácidos nucleicos que codifica la secuencia de aminoácidos transmembrana contenida en la SEQ ID NO: 14.

En determinadas formas de realización, el dominio

transmembrana en el CAR de la invención es el dominio transmembrana CD28. En una forma de realización, el dominio transmembrana de CD28 comprende la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 5. En una forma de realización, el dominio transmembrana de CD28 comprende la secuencia de ácidos nucleicos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. En otra forma de realización, el dominio transmembrana de CD28 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6.

Dominio intracelular (citoplasmático). El dominio intracelular (citoplasmático) de las células T modificadas de la invención puede proporcionar la activación de por lo menos una de las funciones efectoras normales de la célula inmunitaria. La función efectora de una célula T puede ser, por ejemplo, una actividad citolítica o una actividad auxiliar, que incluye la secreción de citoquinas.

Se podrá apreciar que las moléculas intracelulares adecuadas incluyen (es decir, comprenden), pero en un sentido no taxativo, CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada-1 (PD-1), un coestimulante inducible de células T (ICOS), antígeno asociado a la función de linfocitos-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor de Fc gamma, una molécula

MHC clase 1, proteínas receptoras de TNF, una proteína inmunoglobulina, receptor de citoquina, integrinas, moléculas linfocitarias activadoras de señales (proteínas SLAM), receptores activadores de células NK, BTLA, un receptor del ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD1 1d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1 1a, LFA-1, ITGAM, CD1 1b, ITGAX, CD1 1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Táctil), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente a CD83 o cualquier combinación de los mismos.

En una forma de realización preferida, el dominio citoplasmático del CAR se puede diseñar para que comprenda el dominio de señalización de CD3 zeta por sí solo o combinado con cualquier otro dominio citoplasmático deseado de utilidad en el contexto del CAR de la invención. Por ejemplo, el dominio citoplasmático del CAR puede comprender una porción de la cadena CD3 zeta y una región de señalización

coestimulante.

Las secuencias de señalización citoplasmáticas en la porción de señalización citoplasmática del CAR de la invención se pueden unir entre sí en un orden aleatorio o específico.

En una forma de realización preferida, el dominio citoplasmático está diseñado para comprender el dominio de señalización de CD3 zeta y el dominio de señalización de CD28. En otra forma de realización preferida, el dominio citoplasmático está diseñado para comprender el dominio de señalización de CD3 zeta y el dominio de señalización de 4-1BB. En otra forma de realización, el dominio citoplasmático en el CAR de la invención está diseñado para comprender una porción de CD28 y CD3 zeta, en donde el CD28 citoplasmático comprende la secuencia de ácidos nucleicos que se ilustra en la SEQ ID NO: 7 y la secuencia de aminoácidos que se ilustra en la SEQ ID NO: 8. La secuencia de ácidos nucleicos de CD3 zeta se ilustra en la SEQ ID NO: 9 y la secuencia de aminoácidos se ilustra en la SEQ ID NO: 8.

Se podrá apreciar que una orientación preferida de los CAR de acuerdo con la invención comprende un dominio de unión al antígeno (tal como scFv) en tándem con un dominio coestimulante y un dominio activador. El dominio coestimulante puede comprender uno o más entre una porción

extracelular, una porción transmembrana y una porción intracelular. Se podrá apreciar además que se pueden utilizar múltiples dominios coestimulantes en tándem.

En algunas formas de realización, se proveen ácidos nucleicos que comprenden un promotor ligado operativamente a un primer polinucleótido que codifica una molécula de unión al antígeno, por lo menos una molécula coestimulante y un dominio activador.

En algunas formas de realización, la construcción de ácidos nucleicos está contenida en un vector viral. En algunas formas de realización, el vector viral se selecciona del grupo que consiste en vectores retrovirales, vectores del virus de leucemia murina, vectores SFG, vectores adenovirales, vectores lentivirales, vectores de virus adenoasociados (AAV), vectores del virus *Herpes* y vectores del virus *Vaccinia*. En algunas formas de realización, el ácido nucleico está contenido dentro de un plásmido.

La invención se relaciona además con polinucleótidos aislados que codifican los receptores de antígenos quiméricos, y con vectores que comprenden a los polinucleótidos. Cualquier vector conocido en la técnica puede ser adecuado para la presente invención. En algunas formas de realización, el vector es un vector viral. En algunas formas de realización, el vector es un vector

retroviral (tal como pMSVG1), un vector de ADN, un vector del virus de leucemia murina, un vector SFG, un plásmido, un vector de ARN, un vector adenoviral, un vector baculoviral, un vector viral de Epstein Barr, un vector papovaviral, un vector viral de *Vaccinia*, un vector viral de *Herpes simple*, un vector asociado a adenovirus (AAV), un vector lentiviral (tal como pGAR) o cualquier combinación de los mismos. El mapa del vector pGAR se muestra en la FIGURA 12. La secuencia de pGAR es:

```

CTGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGC
GTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTC
TCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCG
ATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGT
GGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATA
GTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTT
ATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTT
AACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTGCCATTCGCCATTCAGGCTGCGCA
ACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGG
ATGTGCTGCAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCAGTCACGACGTTGTAAA
ACGACGGCCAGTGAATTGTAATACGACTCACTATAGGGCGACCCGGGGATGGCGCGCCAGT
AATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTAC
GGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACG
TATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTAC
GGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGA

```

CGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTT
CCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGCTGATGCGGTTTTGGC
AGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCAT
TGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAAAC
AACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCA
GAGCTGGTTTTAGTGAACCGGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCT
GGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAG
TGTGTGCCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGT
GTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAGAGG
AGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCG
ACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTGACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAG
AGCGTCAGTATTAAGCGGGGGAGAATTAGATCGCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAG
GGGGAAAGAAAAAATATAAATTAAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATT
CGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTA
CAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACAGTAGCAACCC
TCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGA
GGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCACCGCACAGCAAGCCGCCGCTGATCTTCAGACCTGG
AGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATT
GAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAAGAG
CAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTCTTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGC
AGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAG
AACAAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCA
TCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCT
GGGGATTTGGGGTTGCTCTGGAAAACATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGAATGCTAGT

TGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTTGGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAG
AAATTAACAATTACACAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGA
AAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAAC
ATAACAAATTGGCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTT
TAAGAATAGTTTTTGTGTACTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCATT
ATCGTTTCAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAA
GAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTCGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATC
GGTTAACTTTTAAAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGA
CATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAAATTCAAAATT
TTATCGCGATCGCGGAATGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACG
CCATTTTGCAAGGCATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGG
AACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCG
GCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAA
CCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACT
AACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAATAAAAG
AGCCCACAACCCCTCACTCGGCGCGCCAGTCCTTCGAAGTAGATCTTTGTGCATCCTACCA
TCCACTCGACACACCCGCCAGCGGCCGCTGCCAAGCTTCCGAGCTCTCGAATTAATTCACG
GTACCCACCATGGCCTAGGGAGACTAGTCGAATCGATATCAACCTCTGGATTACAAAATTT
GTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGC
TTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGAT
AAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGG
TGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCT
CCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCTGC
CTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTGCGG

GGAAGCTGACGTCCTTTTCATGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGAC
GTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTG
CCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTT
GGGCCGCTCCCCGCCTGGTTAATTAAAGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCT
GTAGATCTTAGCCACTTTTTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCGAATTCACTCCCAAC
GAAGACAAGATCTGCTTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTG
GGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTG
CTTCAAGTAGTGTGTGCCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCCT
TTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGGCATGCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGT
TTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGC
TATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATT
CATTTTATGTTTCAGGTTCAAGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTTTGGCGCGCCATCGTCGAGG
TTCCCTTTAGTGAGGGTTAATTGCGAGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTG
TGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAG
CCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCCGCTTT
CCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGC
GGTTTGCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCTGTTT
GGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGG
GGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAG
GCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGAC
GCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGG
AAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTT
CTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGT
AGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTTCAGCCCGACCGCTGCGC

CTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCA
GCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGA
AGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAA
GCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGT
AGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAG
ATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAAACCTCACGTTAAGGGAT
TTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGT
TTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCA
GTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGT
CGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCG
CGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCG
AGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGA
AGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGC
ATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTTCAGTCCGGTTCCCAACGATCAA
GGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGAT
CGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAAT
TCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGT
CATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAA
TACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGA
AAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCAACCA
ACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCA
AAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTT
TTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAAT
GTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCAC

(SEQ ID NO: 95)

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

En algunas formas de realización, la célula inmunitaria modificada es una célula T, un linfocito infiltrante de tumores (TIL), una célula NK, una célula que expresa TCR, una célula dendrítica o una célula T NK. En algunas formas de realización, la célula se obtiene o prepara a partir de sangre periférica. En algunas formas de realización, la célula se obtiene o prepara a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). En algunas formas de realización, la célula se obtiene o prepara a partir de médula ósea. En algunas formas de realización, la célula se obtiene o prepara a partir de sangre de cordón umbilical. En algunas formas de realización, la célula es una célula humana. En algunas formas de realización, la célula es transfectada o transducida por el vector de ácido nucleico usando un método seleccionado del grupo que consiste en electroporación, sonoporación, biolística (por ejemplo,

pistola de genes), transfección con lípidos, transfección con polímeros, nanopartículas o poliplejos.

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

MOLÉCULAS DE UNIÓN A ANTÍGENOS

Las moléculas de unión a antígenos se encuentran dentro del alcance de la invención.

Una "molécula de unión al antígeno", según se usa en la presente, hace referencia a cualquier proteína que se une a un antígeno blanco específico. En la presente solicitud, el antígeno blanco especificado es la proteína FLT3 o un fragmento de esta. Las moléculas de unión al antígeno incluyen, pero en un sentido no taxativo, anticuerpos y partes de unión de estos, tales como fragmentos inmunológicamente funcionales. Los peptidocuerpos (es decir, moléculas de fusión Fc que comprenden dominios de unión a péptidos) son otro ejemplo de moléculas de unión a antígenos adecuadas.

En algunas formas de realización, la molécula de unión al antígeno se une a un antígeno sobre una célula tumoral. En algunas formas de realización, la molécula de unión al antígeno se une a un antígeno sobre una célula involucrada en una enfermedad hiperproliferativa o a un antígeno viral o bacteriano. En determinadas formas de realización, la molécula de unión al antígeno se une a FLT3. En otras formas de realización, la molécula de unión al antígeno es un anticuerpo o un fragmento de este, que incluye una o más de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) del mismo. En otras formas de realización, la molécula de unión al antígeno es un fragmento de cadena simple variable (scFv).

El término "fragmento inmunológicamente funcional" (o "fragmento") de una molécula de unión al antígeno es una especie de molécula de unión al antígeno que comprende una porción (independientemente de cómo se obtiene o sintetiza dicha porción) de un anticuerpo que carece de por lo menos algunos de los aminoácidos presentes en una cadena de longitud completa pero que aún se puede unir específicamente a un antígeno. Estos fragmentos presentan actividad biológica si se unen específicamente al antígeno blanco y pueden competir con otras moléculas de unión al antígeno, que incluyen anticuerpos intactos, por la unión específica a un epítipo dado. En algunas formas de realización, los

fragmentos son fragmentos neutralizadores. En algunas formas de realización, los fragmentos pueden bloquear o reducir la actividad de FLT3. En un aspecto, este fragmento retendrá al menos una CDR presente en la cadena ligera o pesada completa, y en algunas formas de realización, comprenderá una sola cadena pesada y/o una cadena ligera, o una porción de esta. Estos fragmentos se pueden producir mediante procedimientos de ADN recombinante o se pueden producir mediante corte enzimático o químico de las moléculas de unión al antígeno, que incluyen anticuerpos intactos.

Los fragmentos de inmunoglobulina inmunológicamente funcionales incluyen, pero en un sentido no taxativo, fragmentos de scFv, fragmentos Fab (Fab', F(ab')₂ y semejantes), una o más CDR, un diacuerpo (un dominio variable de la cadena pesada sobre el mismo polipéptido que un dominio variable de la cadena ligera, unidos por medio de un conector peptídico corto que es demasiado corto como para permitir el apareamiento entre los dos dominios sobre la misma cadena), dominios de anticuerpos y anticuerpos de cadena simple. Estos fragmentos pueden derivar de cualquier fuente de mamífero que incluye, pero en un sentido no taxativo, humano, de ratón, de rata, de camélidos o de conejo. Como podrá apreciar un especialista en la técnica, una molécula de unión al antígeno puede incluir componentes no proteicos.

Las variantes de las moléculas de unión a antígenos también se encuentran dentro del alcance de la invención, por ejemplo, cadenas livianas variables y/o pesadas variables cada una de las cuales tiene por lo menos 70-80%, 80-85%, 85-90%, 90-95%, 95-97%, 97-99% o más de un 99% de identidad con las secuencias de aminoácidos de las secuencias que se describen en la presente. En algunos casos, dichas moléculas incluyen por lo menos una cadena pesada y una cadena ligera, en tanto en otros casos las formas variantes contienen dos cadenas livianas idénticas y dos cadenas pesadas idénticas (o subpartes de las mismas). El especialista podrá determinar las variantes adecuadas de las moléculas de unión al antígeno indicadas en la presente usando técnicas bien conocidas. En algunas formas de realización, el especialista en la técnica podrá identificar asimismo las áreas adecuadas de la molécula que se pueden cambiar sin destruir la actividad buscando regiones que no se consideran importantes para la actividad.

En determinadas formas de realización, la estructura del polipéptido de las moléculas de unión al antígeno se basa en anticuerpos, incluyendo, pero en un sentido no taxativo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, minicuerpos, dominios de anticuerpos, anticuerpos sintéticos (denominados algunas veces "miméticos de anticuerpos" en la presente), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados,

anticuerpos humanos, fusiones de anticuerpos (denominadas algunas veces "conjugados de anticuerpos" en la presente), y fragmentos de éstos, respectivamente. En algunas formas de realización, la molécula de unión al antígeno comprende o consiste en avímeros.

En algunas formas de realización, una molécula de unión al antígeno para FLT3 se administra sola. En otras formas de realización, la molécula de unión al antígeno para FLT3 se administra como parte de un CAR, TCR u otra célula inmunitaria. En dichas células inmunitarias, la molécula de unión al antígeno para FLT3 se puede encontrar bajo el control de la misma región promotora o de un promotor separado. En determinadas formas de realización, los genes que codifican agentes proteicos y/o una molécula de unión al antígeno para FLT3 se pueden encontrar en vectores separados.

La invención también provee composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula de unión al antígeno para FLT3 junto con un diluyente, un vehículo, un solubilizante, un emulsionante, un conservante y/o un adyuvante farmacéuticamente aceptable. En determinadas formas de realización, las composiciones farmacéuticas incluirán más de una molécula de unión al antígeno para FLT3 diferente. En determinadas formas de realización, las composiciones farmacéuticas incluirán más de una molécula de unión al

antígeno para FLT3, en donde las moléculas de unión a antígenos para FLT3 se unen a más de un epítipo. En algunas formas de realización, las diversas moléculas de unión a antígenos no competirán entre sí por la unión a FLT3.

En otras formas de realización, la composición farmacéutica se puede seleccionar para una administración parenteral, para inhalación o para su administración a través del tracto digestivo, tal como por vía oral. La preparación de dichas composiciones adecuadas para uso farmacéutico está dentro de la capacidad de un especialista en la técnica. En determinadas formas de realización, se usan soluciones amortiguadoras para mantener la composición a un pH fisiológico o en un valor de pH ligeramente menor, típicamente dentro de un intervalo de pH de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 8. En determinadas formas de realización, cuando está contemplada la administración parenteral, una composición terapéutica puede estar en forma de solución acuosa libre de pirógenos adecuada para uso parenteral que comprende una molécula de unión al antígeno deseada para FLT3, con o sin agentes terapéuticos adicionales, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En determinadas formas de realización, un vehículo para inyección parenteral es agua destilada estéril en la que se formula una molécula de unión al antígeno contra FLT3, con o

sin al menos un agente terapéutico adicional, como solución isotónica estéril adecuadamente conservada. En determinadas formas de realización, la preparación puede implicar la formulación la molécula deseada con compuestos poliméricos (tales como ácido poliláctico o ácido poliglicólico), esferas o liposomas, que pueden proporcionar una liberación controlada o sostenida del producto, que se puede administrar mediante inyección de depósito. En determinadas formas de realización, se pueden usar dispositivos implantables de administración de la droga para introducir la molécula deseada.

En algunas formas de realización, la molécula de unión al antígeno se usa como una herramienta de diagnóstico o de validación. La molécula de unión al antígeno se puede usar para evaluar la cantidad de FLT3 presente en una muestra y/o en un sujeto. En algunas formas de realización, la molécula de unión al antígeno de diagnóstico no es neutralizante. En algunas formas de realización, las moléculas de unión al antígeno divulgadas en la presente se usan o se proporcionan en un conjunto de elementos para ensayo y/o método para la detección de FLT3 en tejidos o células de mamíferos para detectar/diagnosticar una enfermedad o un trastorno asociado con cambios en los niveles de FLT3. El conjunto de elementos puede comprender una molécula de unión al antígeno que se une

a FLT3, junto con medios para indicar la unión de la molécula de unión al antígeno con FLT3, si estuviera presente, y opcionalmente los niveles de la proteína FLT3.

Las moléculas de unión al antígeno se comprenderán adicionalmente en vista de las siguientes definiciones y descripciones.

Una región "Fc" comprende dos fragmentos de la cadena pesada que comprenden los dominios de anticuerpo CH1 y CH2. Los dos fragmentos de la cadena pesada se mantienen unidos mediante dos o más enlaces disulfuro, y por medio de interacciones hidrofóbicas entre los dominios CH3.

Un "fragmento Fab" comprende una cadena ligera y las regiones CH1 y variables de una cadena pesada. La molécula de una cadena pesada Fab no puede formar un enlace disulfuro con otra molécula de la cadena pesada. Un "fragmento Fab'" comprende una cadena ligera y una porción de una cadena pesada que contiene el dominio VH y el dominio CH1, y también la región entre los dominios CH1 y CH2, por lo que puede formarse un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas de dos fragmentos Fab' para formar una molécula F(ab')₂. Un "fragmento F(ab')₂" comprende dos cadenas livianas y dos cadenas pesadas que contienen una porción de la región constante entre los dominios CH1 y CH2, de modo que se forma un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas. Por lo

tanto; un $F(ab')_2$ está compuesto por dos fragmentos Fab' que se mantienen unidos por un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas.

La "región F_v " comprende las regiones variables de las cadenas pesada y liviana, pero carece de las regiones constantes.

Un "fragmento de cadena simple variable" (" scF_v ", también denominado "anticuerpo de cadena simple") se refiere a moléculas F_v en las cuales las regiones variables de las cadenas pesada y liviana se han unido mediante un conector flexible para formar una sola cadena de polipéptidos, que forma una región de unión al antígeno. Véase la Solicitud PCT WO88/01649 y las Patentes de los EE. UU. No: 4.946.778 y 5.260.203, cuyas descripciones se incorporan por completo a modo de referencia.

Una "molécula de unión al antígeno bivalente" comprende dos sitios de unión al antígeno. En algunos casos, los dos sitios de unión tienen las mismas especificidades antigénicas. Las moléculas de unión a antígenos bivalentes pueden ser biespecíficas. Una "molécula de unión al antígeno multiespecífica" es una molécula dirigida a más de un antígeno o epítipo. Una molécula de unión al antígeno "biespecífica", "de especificidad doble" o "bifuncional" es una molécula de unión al antígeno o un anticuerpo híbrido,

respectivamente, que tiene dos sitios de unión al antígeno diferentes. Los dos sitios de unión de una molécula de unión al antígeno biespecífica se unirán a dos epítomos diferentes, que pueden residir sobre los mismos blancos proteicos o sobre blancos diferentes.

Se dice que una molécula de unión al antígeno "se une específicamente" a su antígeno blanco cuando la constante de disociación (K_d) es $\sim 1 \times 10^{-7}$ M. La molécula de unión al antígeno se une específicamente al antígeno con una "afinidad alta" cuando la K_d es de $1-5 \times 10^{-9}$ M, y se une con una "afinidad muy alta" cuando la K_d es de $1-5 \times 10^{-10}$ M. En una forma de realización, la molécula de unión al antígeno tiene una $K_d \leq 10^{-9}$ M. En una forma de realización, la constante de disociación es $< 1 \times 10^{-5}$. En otras formas de realización, las moléculas de unión a antígenos se unirán al FLT3 humano con una K_d de entre aproximadamente 10^{-7} M y 10^{-13} M, y en aún otra forma de realización las moléculas de unión a antígenos se unirán con una K_d de $1,0-5 \times 10^{-10}$.

Se dice que una molécula de unión al antígeno es "selectiva" cuando se une a un blanco con mayor afinidad que a un segundo blanco.

El término "anticuerpo" hace referencia a una inmunoglobulina intacta de cualquier isotipo o un fragmento de esta que puede competir con el anticuerpo intacto por la

unión específica al antígeno blanco, e incluye, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, completamente humanos y biespecíficos. Un "anticuerpo" es una especie de una molécula de unión al antígeno definida en la presente. En general, un anticuerpo intacto comprenderá por lo menos dos cadenas pesadas completas y dos cadenas livianas completas, pero en algunos casos, puede incluir menos cadenas, tales como los anticuerpos naturales en los camélidos, que pueden comprender solamente cadenas pesadas. Los anticuerpos pueden derivar de una sola fuente o pueden ser quiméricos, es decir, distintas porciones del anticuerpo pueden derivar de dos anticuerpos diferentes, como se describirá con mayor detalle más adelante. Las moléculas de unión al antígeno, los anticuerpos o los fragmentos de unión se pueden producir en hibridomas, mediante técnicas de ADN recombinante o mediante corte enzimático o químico de anticuerpos intactos. A menos que se indique de otra manera, el término "anticuerpo" incluye, además de los anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas livianas de longitud completa, derivados, variantes, fragmentos y mutaciones de estos, de los cuales se describen ejemplos más adelante. Además, a menos que se los excluya de manera explícita, los anticuerpos incluyen anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, minicuerpos, dominios de anticuerpos,

anticuerpos sintéticos (conocidos en algunas ocasiones en la presente como "miméticos de anticuerpos"), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, fusiones de anticuerpos (conocidas en algunas ocasiones en la presente como "conjugados de anticuerpos"), y fragmentos de éstos, respectivamente.

Las regiones variables típicamente presentan la misma estructura general de regiones de marco (FR) relativamente conservadas unidas por las 3 regiones hipervariables (es decir, "CDR"). Las CDR de las dos cadenas de cada par típicamente están alineadas por las regiones de marco, que pueden permitir la unión con un epítipo específico. Desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo, las regiones variables de las cadenas liviana y pesada típicamente comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Por convención, las regiones de CDR en la cadena pesada típicamente se conocen como CDR1, CDR2 y CDR3 HC. Las regiones CDR en la cadena ligera típicamente se conocen como LC CDR1, CDR2 y CDR3. La asignación de los aminoácidos a cada dominio típicamente es acorde con las definiciones de Kabat (*Seqs of Proteins of Immunological Interest* (NIH , Bethesda, MD (1987 y 1991)) o de Chothia (*J. Mol. Biol.*, 196: 901-917 (1987); Chothia et al., *Nature*, 342: 878-883 (1989)). Se pueden emplear varios métodos de análisis para identificar o

aproximar las regiones CDR, que no sólo incluyen Kabat o Chothia, sino también la definición de AbM.

El término "cadena ligera" incluye una cadena ligera completa y fragmentos de esta que tienen una secuencia suficiente de la región variable para conferir especificidad de unión. Una cadena ligera de longitud completa incluye un dominio de la región variable, VL, y un dominio de región constante, CL. El dominio de la región variable de la cadena ligera se encuentra en el extremo amino terminal del polipéptido. Las cadenas livianas incluyen cadenas kappa y cadenas lambda.

El término "cadena pesada" incluye una cadena pesada completa y fragmentos de esta que tienen una secuencia suficiente de la región variable para conferir especificidad de unión. Una cadena pesada completa incluye un dominio de la región variable, VH, y tres dominios de la región constante, CH1, CH2 y CH3. El dominio VH se encuentra en el extremo amino del polipéptido, y los dominios CH se encuentran en el extremo carboxilo, de los cuales CH3 es el más cercano al extremo carboxilo del polipéptido. Las cadenas pesadas pueden ser de cualquier isotipo, que incluyen IgG (inclusive los subtipos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) e IgA (inclusive los subtipos IgA1 e IgA2), IgM e IgE.

El término "región variable" o "dominio variable" hace

referencia a una porción de las cadenas livianas y/o pesadas de un anticuerpo, lo que típicamente incluye aproximadamente los 120 a 130 aminoácidos amino-terminales de la cadena pesada y aproximadamente los 100 a 110 aminoácidos amino-terminales de la cadena ligera. La región variable de un anticuerpo típicamente determina la especificidad de un anticuerpo particular por su blanco.

La variabilidad no está distribuida homogéneamente en todos los dominios variables de los anticuerpos; está concentrada en subdominios de cada una de las regiones variables de las cadenas pesada y liviana. Estos subdominios se denominan "regiones hipervariables" o "regiones determinantes de complementariedad" (CDR). Las porciones más conservadas (es decir, no hipervariables) de los dominios variables se conocen como regiones de "marco" (FRM o FR) y proporcionan un andamiaje para las seis CDR en el espacio tridimensional para formar una superficie de unión al antígeno. Los dominios variables de las cadenas pesada y livianas naturales comprenden cada uno cuatro regiones FRM (FR1, FR2, FR3 y FR4), que mayormente adoptan una configuración de lámina β , unidas por tres regiones hipervariables, que forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte, la estructura de lámina β . Las regiones hipervariables de cada cadena se mantienen muy próximas entre

sí por el FRM y, con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen en la formación del sitio de unión al antígeno (véase Kabat et al., *loc. cit.*).

Los términos "CDR", y su forma en plural "CDRs", se refieren a la región determinante de complementariedad de las cuales tres conforman el carácter de unión de una región variable de la cadena ligera (CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3) y tres conforman el carácter de unión de una región variable de la cadena pesada (CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3). Las CDR contienen a la mayoría de los residuos responsables de las interacciones específicas del anticuerpo con el antígeno y por ende contribuyen en la actividad funcional de una molécula de anticuerpo: son los principales determinantes de la especificidad del antígeno.

Los límites y las longitudes exactos que definen las CDR son objeto de diferentes sistemas de clasificación y numeración. Por ello, se puede hacer referencia a las CDR mediante las definiciones de Kabat, Chothia, contacto o cualquier otra definición de los límites, inclusive el sistema de numeración que se describe en la presente. A pesar de los diferentes límites, cada uno de estos sistemas presenta algún grado de superposición en lo que constituyen las denominadas "regiones hipervariables" dentro de las secuencias variables. Las definiciones de CDR de acuerdo con

estos sistemas pueden entonces diferir en cuanto a longitud y áreas del límite con respecto a la región de marco adyacente. Véase, por ejemplo, Kabat (un enfoque basado en la variabilidad entre especies), Chothia (un enfoque basado en estudios cristalográficos de los complejos de antígeno-anticuerpo) y/o MacCallum (Kabat et al., *loc. cit.*; Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 1987, 196: 901-917; y MacCallum et al., *J. Mol. Biol.*, 1996, 262: 732). Aún otro estándar para caracterizar el sitio de unión al antígeno es la definición de AbM usada por el software de modelación de los anticuerpos AbM de Oxford Molecular. Véase, por ejemplo, *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*; en: *Antibody Engineering Lab Manual* (Ed.: Duebel, S. y Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). En la medida en que dos técnicas de identificación de residuos definen regiones superpuestas, pero no idénticas, se pueden combinar para definir una CDR híbrida. Sin embargo, se prefiere la numeración de acuerdo con el sistema conocido como Kabat.

Típicamente, las CDR forman una estructura de bucle que se puede clasificar como una estructura canónica. El término "estructura canónica" se refiere a la principal conformación de cadena que es adoptada por los bucles de unión al antígeno (CDR). A partir de estudios estructurales comparativos, se ha encontrado que cinco de los seis bucles de unión al antígeno

tienen tan solo un repertorio limitado de conformaciones disponibles. Cada estructura canónica se puede caracterizar por los ángulos de torsión del esqueleto polipeptídico. Los bucles entre anticuerpos correspondientes pueden entonces tener estructuras tridimensionales muy similares, a pesar de la elevada variabilidad de secuencias de aminoácidos en la mayor parte de los bucles (Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.*, 1987, 196: 901; Chothia et al., *Nature*, 1989, 342: 877; Martin y Thornton, *J. Mol. Biol.*, 1996, 263: 800). Además, existe una relación entre la estructura adoptada por el bucle y las secuencias de aminoácidos que lo rodean. La conformación de una clase canónica particular está determinada por la longitud del bucle y los residuos de aminoácidos que residen en posiciones clave dentro del bucle, así como dentro del marco conservado (es decir, fuera del bucle). Por lo tanto, la asignación a una clase canónica particular puede efectuarse sobre la base de la presencia de estos residuos de aminoácidos clave.

El término "estructura canónica" también puede incluir consideraciones con respecto a la secuencia lineal del anticuerpo, por ejemplo, según Kabat (Kabat et al., *loc. cit.*). El esquema (sistema) de numeración de Kabat es un estándar adoptado ampliamente para la numeración de los residuos de aminoácidos de un dominio variable de un

anticuerpo de una manera consistente y es el esquema preferido aplicado en la presente invención como también se menciona en otra parte en la presente. También se pueden usar consideraciones estructurales adicionales para determinar la estructura canónica de un anticuerpo. Por ejemplo, aquellas diferencias que no se ven completamente reflejadas por la numeración de Kabat se pueden describir mediante el sistema de numeración de Chothia et al., y/o reveladas mediante otras técnicas, por ejemplo, cristalografía y modelación por computadora bi o tridimensional. Por lo tanto, se puede asignar una secuencia de anticuerpo dada a una clase canónica que permita, entre otros aspectos, identificar las secuencias básicas apropiadas (por ejemplo, basado en el deseo de incluir una variedad de estructuras canónicas en una biblioteca). La numeración de Kabat de secuencias de aminoácidos de los anticuerpos y las consideraciones estructurales descritas por Chothia et al., *loc. cit.* y sus implicancias para interpretar aspectos canónicos de la estructura del anticuerpo, están descritas en la literatura. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas en la técnica. Por una revisión de la estructura de anticuerpos, véase *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al.,

1988.

La CDR3 de la cadena ligera y, en particular, la CDR3 de la cadena pesada pueden constituir los determinantes más importantes en la unión al antígeno dentro de las regiones variables de las cadenas liviana y pesada. En algunas construcciones de anticuerpos, la CDR3 de la cadena pesada parece constituir la principal área de contacto entre el antígeno y el anticuerpo. Se pueden usar los esquemas de selección *in vitro*, en los cuales solamente varía la CDR3, para variar las propiedades de unión de un anticuerpo o para determinar los residuos que contribuyen en la unión de un antígeno. Por ende, la CDR3 típicamente es la mayor fuente de diversidad molecular dentro del sitio de unión al anticuerpo. Por ejemplo, H3 puede ser tan corto como de dos residuos de aminoácidos o puede ser de 26 aminoácidos.

El término "neutralización" se refiere a una molécula de unión al antígeno, scFv o anticuerpo, respectivamente, que se une a un ligando y previene o reduce el efecto biológico de dicho ligando. Esto puede realizarse, por ejemplo, por medio del bloqueo directo de un sitio de unión en el ligando o mediante la unión al ligando y la alteración de la capacidad del ligando de unirse por medios indirectos (tal como por medio de alteraciones estructurales o energéticas en el ligando). En algunas formas de realización, el término

también puede indicar una molécula de unión al antígeno que impide que la proteína a la que está unida lleve a cabo una función biológica.

El término "blanco" o "antígeno" hace referencia a una molécula o una porción de una molécula capaz de unirse a una molécula de unión al antígeno. En determinadas formas de realización, un blanco puede tener uno o más epítopos.

El término "competir", cuando se usa en el contexto de moléculas de unión a antígenos que compiten por el mismo epítipo, se refiere a la competencia entre las moléculas de unión a antígenos determinada mediante un ensayo en el cual la molécula de unión al antígeno (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento inmunológicamente funcional del mismo) que se está evaluando previene o inhibe (por ejemplo, reduce) la unión específico de una molécula de unión al antígeno de referencia a un antígeno. Se pueden usar numerosos tipos de ensayos de unión competitiva para determinar si una molécula de unión al antígeno compite con otra, por ejemplo, un radioinmunoensayo (RIA) directo o indirecto en fase sólida (RIA), un inmunoensayo directo o indirecto en fase sólida con enzimas (EIA), un ensayo de competencia intercalado (Stahli et al., 1983, *Methods in Enzymology* 9: 242-253); un EIA directo en fase sólida con biotina-avidina (Kirkland et al., 1986, *J. Immunol.* 137: 3614-3619), un ensayo directo con

marca en fase sólida, un ensayo intercalado directo con marca en fase sólida (Harlow y Lane, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); un RIA directo en fase sólida con el uso de una marca de I-125 (Morel et al., 1988, *Molec. Immunol.* 25: 7-15); un EIA directo en fase sólida con biotina-avidina (Cheung, et al., 1990, *Virology* 176: 546-552); y un RIA directo con una marca (Moldenhauer et al., 1990, *Scand. J. Immunol.* 32: 77-82). El término "epítopo" incluye cualquier determinante capaz de unirse a una molécula de unión al antígeno, tal como un scFv, un anticuerpo o una célula inmunitaria de la invención. Un epítopo es una región de un antígeno que se une a una molécula de unión al antígeno dirigida a dicho antígeno, y cuando el antígeno es una proteína, incluye aminoácidos específicos que están en contacto directo con la molécula de unión al antígeno.

Según se usa en la presente, los términos "marca" o "marcado" hacen referencia a la incorporación de una marca detectable, por ejemplo, la incorporación de un aminoácido radiomarcado o la unión a un polipéptido de unidades de biotina que pueden ser detectadas con avidina marcada (por ejemplo, estreptavidina que contiene un marcador fluorescente o una actividad enzimática que puede ser detectada con métodos ópticos o colorimétricos). En determinadas formas de realización, la marca o el marcador también pueden ser

terapéuticos. Se pueden usar diversos métodos para marcar polipéptidos y glicoproteínas que son conocidos en la técnica.

De acuerdo con la invención, en la presente se puede incorporar las técnicas se interruptores de control de activado-desactivado u otros tipos de técnicas de conmutación de control. Estas técnicas pueden emplear el uso de dominios de dimerización y activadores opcionales de dicha dimerización de dominios. Estas técnicas incluyen, por ejemplo, las que describieron Wu et al., *Science* 2014 350 (6258) utilizando los sistemas de dimerización FKBP/Rapalog en algunas células, cuyos contenidos se incorporan por completo en la presente a modo de referencia. Se describe tecnología adicional sobre dimerización, por ejemplo, en Fegan et al., *Chem. Rev.* 2010, 110, 3315-3336 así como en las Patentes de los EE. UU. No: 5.830.462; 5.834.266; 5.869.337; y 6.165.787, cuyos contenidos también se incorporan por completo en la presente a modo de referencia. Los pares de dimerización adicionales pueden incluir ciclosporina-A/receptor de ciclofilina, estrógeno/receptor de estrógeno (opcionalmente usando tamoxifeno), glucocorticoides/receptor de glucocorticoides, tetraciclina/receptor de tetraciclina, vitamina D/receptor de vitamina D. Otros ejemplos de tecnología de dimerización se pueden consultar, por ejemplo,

en WO 2014/127261, WO 2015/090229, US 2014/0286987, US 2015/0266973, US 2016/0046700, Patente de los EE.UU. No: 8.486.693, US 2014/0171649 y US 2012/0130076, cuyos contenidos también se incorporan por completo en la presente a modo de referencia.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

Las células T nativas se pueden (i) remover de un paciente, (ii) modificar genéticamente para expresar un receptor de un antígeno quimérico (CAR) que se une a por lo menos un antígeno tumoral (iii) expandir ex vivo formando una población más grande de células T modificadas y (iv) reintroducirlas en el paciente, utilizando una inmunoterapia adoptiva. Véase, por ejemplo, las Patentes de los EE. UU. No: 7.741.465 y 6.319.494, Eshhar et al., (*Cancer Immunol*, *supra*); Krause et al., (*supra*); Finney et al., (*supra*). Después de reintroducir las células T modificadas en el paciente, pueden mediar una respuesta inmunológica contra células que expresan al antígeno tumoral. Véase, por ejemplo, Krause et al., *J. Exp. Med.*, volumen 188, No. 4, 1998 (619-626). Esta respuesta inmunológica incluye secreción de IL-2 y otras citoquinas por células T, la expansión clonal de células T que reconocen al antígeno tumoral y muerte específica mediada por células T de células positivas para el blanco. Véase Hombach et al., *Journal of Immun.*, 167: 6123-

6131 (2001).

Por ello, en algunos aspectos la invención comprende un método para tratar o prevenir una condición asociada con niveles indeseados y/o elevados de FLT3 en un paciente, que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de por lo menos una molécula de unión al antígeno aislada, CAR o TCR divulgados en la presente.

Se proveen métodos para tratar enfermedades o trastornos, que incluyen cáncer. En algunas formas de realización, la invención se relaciona con la creación de una respuesta inmunológica mediada por células T en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz de las células inmunitarias modificadas de la presente solicitud a dicho sujeto. En algunas formas de realización, la respuesta inmunológica mediada por células T está dirigida contra una o más células diana. En algunas formas de realización, la célula inmunitaria modificada comprende un receptor de un antígeno quimérico (CAR) o un receptor de células T (TCR). En algunas formas de realización, la célula diana es una célula tumoral. En algunos aspectos, la invención comprende un método para tratar o prevenir una forma maligna, donde dicho método comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de por lo menos una molécula de unión al antígeno aislada que se describe en la presente. En algunos

aspectos, la invención comprende un método para tratar o prevenir una forma maligna, donde dicho método comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de por lo menos una célula inmunitaria, en donde dicha célula inmunitaria comprende por lo menos un receptor del antígeno quimérico, un receptor de células T y/o una molécula de unión al antígeno aislada como se describe en la presente.

En algunos aspectos, la invención comprende una composición farmacéutica que comprende por lo menos una molécula de unión al antígeno que se describió en la presente y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas formas de realización, la composición farmacéutica comprende además un agente activo adicional.

Las moléculas de unión a antígenos, los CAR, los TCR, las células inmunitarias y semejantes de la invención se pueden usar para tratar enfermedades mieloides que incluyen, pero en un sentido no taxativo, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mielogénica crónica (CML), leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia mielomonocítica juvenil, leucemia mieloide crónica atípica, leucemia promielocítica aguda (APL), leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroide aguda, leucemia megacarioblástica aguda, síndrome mielodisplásico (MDS), trastorno mieloproliferativo, neoplasia mieloide, sarcoma mieloide) o combinaciones de los

mismos. Otras enfermedades incluyen enfermedades inflamatorias y/o autoinmunitarias tales como artritis reumatoide, psoriasis, alergias, asma, enfermedad de Crohn, IBD, IBS, fibromialgia, mastocitosis y enfermedad celíaca.

Se podrá apreciar que las dosis diana para las células CAR⁺/ CAR-T⁺/ TCR⁺ pueden variar en un intervalo de 1×10^6 - 2×10^{10} células/kg preferiblemente, 2×10^6 células/kg más preferiblemente. Se podrá apreciar que en determinados sujetos pueden ser apropiadas las dosis por encima y por debajo de este intervalo, y un profesional de la salud podrá determinar los niveles de dosis apropiados según necesidad. Adicionalmente, se pueden proveer múltiples dosis de células de acuerdo con la invención.

También se proveen métodos para reducir el tamaño de un tumor en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una célula modificada de la presente invención a dicho sujeto, en donde la célula comprende un receptor de un antígeno quimérico, un receptor de células T o un receptor del antígeno quimérico basado en el receptor de células T que comprende una molécula de unión al antígeno que se une a un antígeno sobre el tumor. En algunas formas de realización, el sujeto tiene un tumor sólido o una forma maligna sanguínea, tal como un linfoma o leucemia. En algunas formas de realización, la célula modificada se suministra en un lecho

tumoral. En algunas formas de realización, el cáncer está presente en la médula ósea del sujeto.

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

Los métodos también pueden comprender administrar uno o más agentes quimioterapéuticos. En determinadas formas de realización, el agente quimioterapéutico es un quimioterapéutico redactor de linfocitos (preacondicionante). Los regímenes de tratamiento preacondicionantes beneficiosos, junto con los biomarcadores beneficiosos correlativos, se describen en las Solicitudes Provisionales de Patente de los EE. UU. No: 62/262.143 y 62/167.750 que se incorporan por completo en la presente a modo de referencia. Se describen, por ejemplo, métodos de acondicionamiento de un paciente que necesita de una terapia con células T que comprende administrar al paciente dosis beneficiosos específicos de ciclofosfamida (entre 200 mg/m²/día y 2000 mg/m²/día) y dosis

específicas de fludarabina (entre 20 mg/m²/día y 900 mg/m²/día). Un régimen de dosis preferido comprende tratar un paciente mediante la administración diaria al paciente de aproximadamente 500 mg/m²/día de ciclofosfamida y aproximadamente 60 mg/m²/día de fludarabina durante tres días antes de la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de células T modificadas al paciente.

En otras formas de realización, la molécula de unión al antígeno, las células transducidas (o modificadas de otra manera) (tal como con CAR o TCR) y el agente quimioterapéutico se administran cada una en una cantidad eficaz para tratar la enfermedad o afección en el sujeto.

En determinadas formas de realización, las composiciones que comprenden las células inmunitarias efectoras que expresan CAR divulgadas en la presente se pueden administrar junto con cualquier número de agentes quimioterapéuticos. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclosfosfamida (CYTOXANTM); alquilsulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocuona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina resume; mostazas de nitrógeno tales como

clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato del óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinoestatina, zorubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tal como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, 5-FU; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona;

anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; repositor de ácido fólico tal como el ácido frolínico; aceglatona; aldofosfamida glicósido; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfomitina; acetato de eliptinio; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiiurea; lentinano; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK®; razoxano; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2',2''-triclorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxanos, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL™, Bristol-Myers Squibb) y docetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer); clorambucilo, gemcitabine, 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrona; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS2000; difluorometilornitina (DMFO); derivados de ácido retinoico tales como Targretin™ (bexaroteno), Panretin™, (alitretinoína); ONTAK™

(denileuquina diftitox); esperamicinas; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los mencionados. Esta definición también incluye agentes anti-hormonales, que actúan en la regulación o inhibición de la acción de la hormona en tumores, tales como anti-estrógenos que incluyen, por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, 4(5)-imidazoles inhibidores de aromatasas, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (Fareston); y anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquier de los mencionados. También se administran combinaciones de agentes quimioterapéuticos cuando fuera apropiado, que incluyen, pero en un sentido no taxativo, CHOP, es decir, ciclofosfamida (Cytosan®), doxorubicina (hidroxidoxorubicina), vincristina (Oncovin®) y prednisona.

En algunas formas de realización, el agente quimioterapéutico se administra al mismo tiempo o en el transcurso de una semana después de la administración de la célula o el ácido nucleico modificado. En otras formas de realización, el agente quimioterapéutico se administra entre 1 y 4 semanas o entre 1 semana y 1 mes, entre 1 semana y 2 meses, entre 1 semana y 3 meses, entre 1 semana y 6 meses,

entre 1 semana y 9 meses o entre 1 semana y 12 meses después de administrar la célula o el ácido nucleico modificado. En otras formas de realización, el agente quimioterapéutico se administra por lo menos 1 mes antes de administrar la célula o el ácido nucleico. En algunas formas de realización, los métodos también comprenden administrar dos o más agentes quimioterapéuticos.

Se puede usar una variedad de agentes terapéuticos adicionales junto con las composiciones que se describen en la presente. Por ejemplo, los agentes terapéuticos adicionales potencialmente útiles incluyen inhibidores de PD-1 tales como nivolumab (Opdivo®), pembrolizumab (Keytruda®), pembrolizumab, pidilizumab y atezolizumab.

Los agentes terapéuticos adicionales adecuadas que son de utilidad en combinación con la invención incluyen, pero en un sentido no taxativo, ibrutinib (Imbruvica®), ofatumumab (Arzerra®), rituximab (Rituxan®), bevacizumab (Avastin®), trastuzumab (Herceptin®), trastuzumab emtansina (KADCYLA®), imatinib (Gleevec®), cetuximab (Erbitux®), panitumumab (Vectibix®), catumaxomab, ibritumomab, ofatumumab, tositumomab, brentuximab, alemtuzumab, gemtuzumab, erlotinib, gefitinib, vandetanib, afatinib, lapatinib, neratinib, axitinib, masitinib, pazopanib, sunitinib, sorafenib, toceranib, lestaurtinib, axitinib, cediranib, lenvatinib,

nintedanib, pazopanib, regorafenib, semaxanib, sorafenib, sunitinib, tivozanib, toceranib, vandetanib, entrectinib, cabozantinib, imatinib, dasatinib, nilotinib, ponatinib, radotinib, bosutinib, lestaurtinib, ruxolitinib, pacritinib, cobimetinib, selumetinib, trametinib, binimetinib, alectinib, ceritinib, crizotinib, aflibercept, adipotida, denileuquina diftitox, inhibidores de mTOR tales como Everolimus y Temsirolimus, inhibidores de la vía Hedgehog tales como sonidegib y vismodegib, inhibidores de CDK tal como un inhibidor de CDK (palbociclib).

En formas de realización adicionales, la composición que comprende células inmunitarias que contienen CAR se puede administrar con un agente antiinflamatorio. Los agentes o fármacos antiinflamatorios incluyen, pero en un sentido no taxativo, esteroides y glucocorticoides (que incluyen betametasona, budesónida, dexametasona, acetato de hidrocortisona, hidrocortisona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, triamcinolona), fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID) que incluyen aspirina, ibuprofeno, naproxeno, metotrexato, sulfasalazina, leflunomida, medicaciones anti-TNF, ciclofosfamida y micofenolato. Los ejemplos de NSAID incluyen ibuprofeno, naproxeno, naproxeno sódico, inhibidores de Cox-2 y sialilatos. Los ejemplos de analgésicos incluyen

acetaminofeno, oxicodona, tramadol de clorhidrato de propoxifeno. Los ejemplos de glucocorticoides incluyen cortisona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona o prednisona. Los ejemplos de modificadores de la respuesta biológica incluyen moléculas dirigidas contra marcadores de la superficie celular (por ejemplo, CD4, CD5, etc.), inhibidores de citoquinas, tales como los antagonistas de TNF, (por ejemplo, etanercept (ENBREL®), adalimumab (HUMIRA®) e infliximab (REMICADE®), inhibidores de quimioquinas e inhibidores de moléculas de adhesión. Los modificadores de la respuesta biológica incluyen anticuerpos monoclonales, así como formas recombinantes de las moléculas. Los ejemplos de DMARD incluyen azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina, metotrexato, penicilamina, leflunomida, sulfasalazina, hidroxicloroquina, oro (oral (auranofina) e intramuscular) y minociclina.

En determinadas formas de realización, las composiciones que se describen en la presente se administran junto con una citoquina. El término "citoquina", según se usa en la presente, se refiere a las proteínas liberadas por una población de células que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares. Los ejemplos de citoquinas incluyen linfoquinas, monoquinas y las hormonas polipeptídicas tradicionales. Las citoquinas incluyen

hormonas de crecimiento, tales como la hormona de crecimiento humana, la hormona de crecimiento N-metionilo humana y la hormona de crecimiento bovina; la hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorrelaxina; las hormonas glicoproteicas, tales como la hormona folículo estimulante (FSH), la hormona estimulante de tiroides (TSH) y la hormona luteinizante (LH); el factor de crecimiento hepático (HGF); el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); prolactina; lactógeno placentario; la sustancia inhibidora mulleriana; el péptido asociado con gonadotrofinas de ratón; inhibina; activina; el factor de crecimiento del endotelio vascular; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento de los nervios (NGF), tal como NGF-alfa; el factor de crecimiento de plaquetas; los factores de crecimiento transformantes (TGF), tales como TGF-alfa y TGF-beta; los factores de crecimiento tipo insulina I y II; eritropoyetina (EPO); los factores osteoinductores; interferones, tales como los interferones alfa, beta y gamma; los factores estimulantes de colonias (CSF), tales como el CSF de macrófagos (M-CSF), el CSF de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y el CSF de granulocitos (G-CSF); interleuquinas (IL), tales como IL-1, IL-1-alfa, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15; un factor de necrosis tumoral, tal como TNF-alfa o TNF-

beta; y otros factores polipeptídicos, que incluyen LIF y el ligando Kit (KL). Según se usa en la presente, el término citoquina incluye proteínas de fuentes naturales o cultivos de células recombinantes, y equivalentes con actividad biológica de las secuencias de citoquinas nativas.

En algunos aspectos, la invención comprende una molécula de unión al antígeno que se une al FLT3 con una K_d que es menor que 100 pM. En algunas formas de realización, la molécula de unión al antígeno se une con una K_d que es menor que 10 pM. En otras formas de realización, la molécula de unión al antígeno se une con una K_d que es menor que 5 pM.

MÉTODOS DE ELABORACIÓN

Se puede utilizar una variedad de técnicas conocidas en la elaboración de los polinucleótidos, polipéptidos, vectores, moléculas de unión a antígenos, células inmunitarias, composiciones y semejantes de acuerdo con la invención.

Antes de la manipulación o modificación genética *in vitro* de las células inmunitarias que se describen en la presente, se pueden obtener células de un sujeto. En algunas formas de realización, las células inmunitarias comprenden células T. Las células T se pueden obtener de numerosas fuentes, que incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC), médula ósea, tejido de nódulos linfáticos, sangre de cordón umbilical, tejido de timo, tejido de un

sitio de infección, ascitis, efusión pleural, tejido de bazo y tumores. En determinadas formas de realización, las células T se pueden obtener de una unidad de sangre recolectada del sujeto usando cualquiera de numerosas técnicas conocidas por el especialista, tal como separación con FICOLL™. Las células preferiblemente se pueden obtener de la sangre circulante de un individuo por aféresis. El producto de una aféresis contiene típicamente linfocitos, que incluyen células T, monocitos, granulocitos, células B, otros glóbulos blancos nucleados, glóbulos rojos y plaquetas. En determinadas formas de realización, las células recolectadas por aféresis se pueden lavar para eliminar la fracción plasmática y colocar en una solución amortiguadora o medio apropiado para el procesamiento subsiguiente. Las células se pueden lavar con PBS. Como se podrá apreciar, se puede emplear un paso de lavado, tal como usar una centrífuga de flujo semiautomática - por ejemplo, el procesador de células Cobe™ 2991, el Baxter CytoMate™ o semejantes. Después del lavado, las células se pueden resuspender en una variedad de soluciones amortiguadoras biocompatibles, u otra solución salina con o sin solución amortiguadora. En determinadas formas de realización, se pueden eliminar los componentes indeseados de la muestra de la aféresis.

En determinadas formas de realización, se aíslan células

T de las PBMC mediante lisado de los glóbulos rojos y agotamiento de monocitos, por ejemplo, usando centrifugación a través de un gradiente de PERCOLL™. Se puede aislar además una subpoblación de células T específica, tales como células T CD28⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺ y CD45RO⁺ mediante técnicas de selección positiva o negativa que son conocidas en la técnica. Por ejemplo, el enriquecimiento de una población de células T mediante selección negativa se puede efectuar con una combinación de anticuerpos dirigidos a los marcadores de superficie que son únicos para las células seleccionadas negativamente. Un método de utilidad en la presente es la separación de células y/o la selección por medio de inmunoadherencia magnética negativa o citometría de flujo, que emplea un cóctel de anticuerpos monoclonales dirigidos a los marcadores de la superficie celular presentes sobre las células seleccionadas negativamente. Por ejemplo, para el enriquecimiento en células CD4⁺ mediante selección negativa, el cóctel de anticuerpos monoclonales incluye típicamente anticuerpos contra CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR y CD8. También se puede usar citometría de flujo y separación de células para aislar poblaciones de células de interés que son de utilidad en la presente invención.

Las PBMC se pueden usar directamente para la modificación genéticas con las células inmunitarias (tales

como CAR o TCR) usando los métodos que se describen en la presente. En determinadas formas de realización, después de aislar las PBMC, se pueden aislar adicionalmente los linfocitos T y se pueden separar tanto linfocitos T citotóxicos como auxiliares en subpoblaciones de células T no expuestas con anterioridad, de memoria y efectoras, ya sea antes o después de la modificación y/o expansión genética.

En algunas formas de realización, también se separan células CD8⁺ en células no expuestas con anterioridad, de memoria central y efectoras mediante la identificación de los antígenos de la superficie celular que están asociados con cada uno de estos tipos de células CD8⁺. En algunas formas de realización, la expresión de marcadores fenotípicos de las células T de memoria central incluyen CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 y CD127 y son negativas para la granzima B. En algunas formas de realización, las células T de memoria central son células T CD45RO⁺, CD62L⁺, CD8⁺. En algunas formas de realización, las células T efectoras son negativas para CD62L, CCR7, CD28 y CD127, y positivas para la granzima B y perforina. En determinadas formas de realización, también se separan células T CD4⁺ en subpoblaciones. Por ejemplo, las células T auxiliares CD4⁺ se pueden separar en células no expuestas con anterioridad, de memoria central y efectoras mediante identificación de poblaciones de células que

presentan antígenos sobre la superficie celular.

Las células inmunitarias, tales como células T, se pueden modificar genéticamente después del aislamiento usando métodos conocidos, o las células inmunitarias se pueden activar y expandir (o diferenciar en el caso de los progenitores) *in vitro* antes de modificarlas genéticamente. En otra forma de realización, las células inmunitarias, tales como células T, están modificadas genéticamente con los receptores de antígenos quiméricos que se describen en la presente (por ejemplo, fueron transducidas con un vector viral que comprende una o más secuencias de nucleótidos que codifican un CAR) y luego se activan y/o expanden *in vitro*. Los métodos para activar y expandir células T son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en la Patente de los EE. UU. NO: 6.905.874; la Patente de los EE. UU. NO: 6.867.041; la Patente de los EE. UU. NO: 6.797.514; y en PCT WO2012/079000, cuyos contenidos se incorporan por completo en la presente a modo de referencia. En general, dichos métodos incluyen poner PBMC o células T aisladas en contacto con un agente estimulante y un agente coestimulante, tales como anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28, generalmente unidos a una esfera u otra superficie, en un medio de cultivo con las citoquinas apropiadas, tal como IL-2. Los anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 unidos a la misma esfera sirven como una

célula presentadora de antígeno (APC) "sustituta". Un ejemplo es el sistema Dynabeads®, un sistema activador/estimulante de CD3/CD28 para la activación fisiológica de células T humanas.

En otras formas de realización, las células T se pueden activar y estimular para proliferar con células nutrientes y los anticuerpos y citoquinas apropiados usando métodos tales como los que se describen en la Patente de los EE. UU. NO: 6.040.177; la Patente de los EE. UU. NO: 5.827.642; y en WO2012129514, cuyos contenidos se incorporan por completo en la presente a modo de referencia.

Algunos métodos para elaborar las construcciones y las células inmunitarias modificadas de la invención se describen en la Solicitud PCT PCT/US15/14520, cuyos contenidos se incorporan por completo en la presente a modo de referencia. Otros métodos de elaboración de las construcciones y las células se pueden consultar en la Solicitud Provisional de Patente de los EE. UU. NO: 62/244036, cuyos contenidos se incorporan por completo en la presente a modo de referencia.

Se podrá apreciar que las PBMC también pueden incluir otros linfocitos citotóxicos, tales como células NK o células T NK. Se puede introducir un vector de expresión que comprende la secuencia codificante de un receptor quimérico descrito en la presente en una población de células T, células NK o células T NK donantes humanas. Las células T

transducidas exitosamente que comprenden el vector de expresión se pueden separar usando citometría de flujo para aislar las células T CD3 positivas y luego se pueden propagar para aumentar el número de estas células T que expresan CAR además de la activación de células usando anticuerpos anti-CD3 e IL-2 u otros métodos conocidos en la técnica que se describen en otra parte en la presente. Se emplean procedimientos estándar para la crioconservación de células T que expresan el CAR para su almacenamiento y/o para su preparación antes de su uso en un sujeto humano. En una forma de realización, la transducción, cultivo y/o expansión de células T *in vitro* se efectúan en la ausencia de productos derivados de un animal no humano, tal como suero fetal de ternera y suero fetal bovino.

Para la clonación de polinucleótidos, el vector se puede introducir en una célula hospedera (una célula hospedera aislada) para permitir la replicación del propio vector y así amplificar las copias del polinucleótido contenido en el mismo. Los vectores de clonación pueden contener los componentes de secuencias que en general, en un sentido no taxativo, un origen de replicación, secuencias promotoras, secuencias iniciadoras de la transcripción, secuencias potenciadoras y marcadores seleccionables. Estos elementos los puede seleccionar, según corresponda, un

especialista en la técnica. Por ejemplo, el origen de replicación se puede seleccionar para promover una replicación autónoma del vector en la célula hospedera.

En determinadas formas de realización, la presente divulgación provee células hospederas aisladas que contienen el vector provisto en la presente. Las células hospederas que contiene el vector pueden ser de utilidad en la expresión o clonación del polinucleótido contenido en el vector. Las células hospederas adecuadas pueden incluir, en un sentido no taxativo, células procariotas, células fúngicas, células de levadura o células eucariotas superiores, tales como células de mamífero. Las células procariotas adecuadas para este propósito incluyen, en un sentido no taxativo, eubacterias, tales como organismos Gram-negativos o Gram-positivos, por ejemplo, *Enterobacteriaceae* tal como *Escherichia*, por ejemplo, *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, por ejemplo, *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, por ejemplo, *Serratia marcescans* y *Shigella*, así como *Bacilli* tal como *B. subtilis* y *B. licheniformis*, *Pseudomonas* tales como *P. aeruginosa* y *Streptomyces*.

El vector se puede introducir en la célula hospedera usando cualquiera de los métodos adecuados conocidos en la técnica que incluyen, en un sentido no taxativo, administración mediada por DEAE-dextrano, el método de

precipitación por fosfato de calcio, administración mediada por lípidos catiónicos, transfección mediada por liposomas, electroporación, bombardeo con microproyectiles, administración de genes mediada por receptores, administración mediada por polilisina, histona, quitosano y péptidos. Los métodos estándar de transfección y transformación de células para la expresión de un vector de interés son bien conocidos en la técnica. En una forma de realización adicional, se puede usar una mezcla de diferentes vectores de expresión en la modificación genética de una población donante de células inmunitarias efectoras, en donde cada vector codifica un CAR diferente descrito en la presente. Las células inmunitarias efectoras transducidas resultantes forman una población mixta de células modificadas, con una proporción de las células modificadas expresan más de un CAR diferente.

En una forma de realización, la invención provee un método para guardar las células modificadas genéticamente que expresan CAR o TCR dirigidas a la proteína FLT3. Esto comprende crioconservar las células inmunitarias de manera tal que las células permanezcan viables tras el descongelamiento. Se puede crioconservar una fracción de las células inmunitarias que expresan los CAR mediante métodos conocidos en la técnica para proporcionar una fuente

permanente de dichas células para el tratamiento futuro de pacientes afectados con una forma maligna. Cuando fuera necesario, las células inmunitarias transformadas crioconservadas se pueden descongelar, hacer crecer y expandir para obtener más de dichas células.

Según se usa en la presente, el término "crioconservar" se refiere a la conservación de células mediante enfriamiento a temperaturas bajo cero, tal como (típicamente) 77 grados Kelvin o -196°C (el punto de ebullición de nitrógeno líquido). Los agentes crioprotectores a menudo se usan a temperaturas bajo cero para preservar a las células contra los daños debido al congelamiento a temperaturas bajas o el calentamiento a temperatura ambiente. Los agentes crioconservadores y los índices de enfriamiento óptimos pueden ofrecer protección contra lesiones celulares. Los agentes crioprotectores que se pueden usar de acuerdo con la invención incluyen, pero en un sentido no taxativo: dimetilsulfóxido (DMSO) (Lovelock & Bishop, *Nature* (1959); 183: 1394-1395; Ashwood-Smith, *Nature* (1961); 190: 1204-1205), glicerol, polivinilpirrolidona (Rinfret, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (1960); 85: 576) y polietilenglicol (Sloviter & Ravdin, *Nature* (1962); 196: 48). La velocidad de enfriamiento preferida es de $1-3^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$.

El término, "sustancialmente puro" se usa para indicar

que un componente dado está presente a un nivel alto. Preferiblemente, el componente es el componente predominante que está presente en una composición. Preferiblemente está presente a un nivel de más del 30%, de más del 50%, de más del 75%, de más del 90% o aún de más del 95%, donde dicho nivel se determina sobre una base de peso seco/peso seco con respecto a la composición total en consideración. A niveles muy altos (por ejemplo, a niveles de más del 90%, de más del 95% o de más del 99%) se puede considerar que el componente se encuentra en una "forma pura". Las sustancias biológicamente activas de la presente invención (que incluyen polipéptidos, moléculas de ácidos nucleicos, moléculas de unión a antígenos, porciones) se pueden proveer en una forma que está sustancialmente libre de uno o más contaminantes con los cuales de lo contrario la sustancia estaría asociada. Cuando una composición está sustancialmente libre de un contaminante dado, dicho contaminante se encontrará a un nivel bajo (por ejemplo, a un nivel de menos del 10%, menos del 5% o menos del 1% sobre la base del peso seco/peso seco como se indicó antes).

En algunas formas de realización, las células se formulan primero mediante cosecha de estas a partir de su medio de cultivo y luego lavado y concentración de las células en un medio y un sistema contenedor adecuado para su

administración (un vehículo "farmacéuticamente aceptable") en una cantidad eficaz para el tratamiento. Los medios de infusión adecuados pueden comprender cualquier formulación de un medio isotónico, típicamente salina normal, Normosol™ R (Abbott) o Plasma-Lyte™ A (Baxter), pero también se puede utilizar dextrosa al 5% en agua o lactato de Ringer. El medio de infusión se puede suplementar con albúmina de suero humano.

Las cantidades de tratamiento deseadas de las células presentes en la composición generalmente es de por lo menos 2 células (por ejemplo, por lo menos 1 subconjunto de células T de memoria central CD8⁺ y por lo menos 1 subconjunto de células T auxiliares CD4⁺) o más típicamente es de más de 10² células y hasta 10⁶, hasta e inclusive 10⁸ o 10⁹ células y puede ser de más de 10¹⁰ células. El número de células dependerá del uso deseado pretendido de la composición y del tipo de células incluidas en la misma. La densidad de las células deseadas típicamente es mayor que 10⁶ células/ml y en general es mayor que 10⁷ células/ml, generalmente 10⁸ células/ml o mayor. El número de células inmunitarias clínicamente relevante se puede distribuir en múltiples infusiones que acumuladas son iguales o exceden 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹, 10¹⁰, 10¹¹ o 10¹² células. En algunos aspectos de la presente invención, en particular dado que todas las células

infundidas serán redirigidas a un antígeno blanco particular (FLT3), se puede administrar una cantidad menor de células, en el intervalo de 10^6 /kilogramo (10^6 - 10^{11} por paciente). Los tratamientos con CAR se pueden administrar múltiples veces a dosificaciones dentro de estos intervalos. Las células pueden ser autólogas, alogénicas o heterólogas para el paciente que recibe la terapia.

Las poblaciones de células que expresan CAR de la presente invención se pueden administrar ya sea solas, o como una composición farmacéutica en combinación con diluyentes y/o con otros componentes tales como IL-2 u otras citoquinas o poblaciones de células. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender una población de células que expresan CAR o TCR, tales como células T, como se describe en la presente, en combinación con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente o fisiológicamente aceptables. Dichas composiciones pueden comprender soluciones amortiguadoras tales como una solución amortiguadora salina neutra, una solución amortiguadora salina de fosfato y semejantes; carbohidratos tales como glucosa, manosa, sacarosa o dextranos, manitol; proteínas; polipéptidos o aminoácidos tal como glicina; antioxidantes; agentes quelantes, tal como EDTA o glutatión; adyuvantes (por ejemplo, hidróxido de aluminio); y conservantes. Las

composiciones de la presente invención preferiblemente se formulan para una administración intravenosa.

Las composiciones farmacéuticas (soluciones, suspensiones o similares) pueden incluir uno o más de los siguiente: diluyentes estériles tales como agua para inyecciones, solución salina, preferiblemente salina fisiológica, solución Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites modificados tales como mono o diglicéridos sintéticos que podrán servir como solvente o como un medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; soluciones amortiguadoras tales como acetatos, citratos o fosfato, y agentes para ajustar la tonicidad, tales como dextrosa o cloruro de sodio. La preparación parenteral se puede incluir en ampolletas, en jeringas descartables o en viales de múltiples dosis, tanto de plástico como de vidrio. Una composición farmacéutica inyectable preferiblemente es estéril.

Se podrá apreciar que es posible minimizar los eventos adversos mediante transducción de las células inmunitarias (que contienen uno o más CAR o TCR) con un gen suicida. También puede ser deseable incorporar un interruptor

inducible "activador" o "acelerador" en las células inmunitarias. Las técnicas adecuadas incluyen el uso de una caspasa-9 (Solicitud de Patente de los EE. UU. NO: 2011/0286980) o una timidina quinasa inducible, antes, después o al mismo que se transducen las células con la construcción CAR de la presente invención. Otros métodos para introducir genes suicidas y/o interruptores "activados" incluyen TALEN, dedos de zinc, ARNi, ARNsi, ARNhs, tecnología antisentido y otras técnicas conocidas en la técnica.

Se comprenderá que las descripciones de la presente solamente se ofrecen a efectos de ejemplo y explicación y no en un sentido restrictivo de la invención reivindicada. En esta solicitud, el uso del singular incluye al plural a menos que específicamente se defina de otra manera.

Los encabezados de sección utilizados en la presente solamente sirven a efectos de una mejor organización y no deben considerarse como limitantes del objeto descrito. Todos los documentos, o porciones de documento, citados en la solicitud que incluyen, en un sentido no limitativo, patentes, solicitudes de patente, artículos, libros y tratados, se incorporan expresamente y por completo en la presente a modo de referencia. Según se utilizan de acuerdo con la presente descripción, los siguientes términos, a menos que se indique de otra manera, tendrán el significado

indicado a continuación:

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

El término "actividad de FLT3" incluye cualquier efecto biológico de FLT3. En determinadas formas de realización, la actividad de FLT3 incluye la capacidad de FLT3 para interactuar o unirse a un sustrato o receptor.

El término "polinucleótido", "nucleótido" o "ácido nucleico" incluye polímeros de nucleótidos de cadena simple o de cadena doble. Los nucleótidos que comprenden el polinucleótido pueden ser ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos, o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. Estas modificaciones incluyen modificaciones de las bases, tales como la bromouridina y los derivados de inosina, modificaciones de la ribosa, tales como la 2',3'-didesoxirribosa, y modificaciones de los enlaces entre los nucleótidos, tales como fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenato, fosforodiselenato,

fosforoanilotioato, fosforaniladato y fosforoamidato.

El término "oligonucleótido" se refiere a un polinucleótido que comprende 200 nucleótidos o menos. Los oligonucleótidos pueden ser de cadena simple o de cadena doble, por ejemplo, para su uso en la construcción de un gen mutante. Los oligonucleótidos pueden estar orientados en el sentido del marco de lectura o antisentido. Un oligonucleótido puede incluir una marca, incluyendo una radiomarca, una marca fluorescente, un hapteno o una marca antigénica, para los ensayos de detección. Los oligonucleótidos se pueden usar, por ejemplo, como cebadores de PCR, cebadores de clonación o sondas de hibridación.

El término "secuencia de control" hace referencia a una secuencia de polinucleótidos que puede afectar la expresión y el procesamiento de las secuencias codificantes a las que está unida. La naturaleza de estas secuencias de control puede depender del organismo hospedero. En formas de realización particulares, las secuencias de control para procariotas pueden incluir un promotor, un sitio de unión a ribosomas y una secuencia de terminación de la transcripción. Por ejemplo, las secuencias de control para los eucariotas pueden incluir promotores que comprenden uno o una pluralidad de sitios de reconocimiento para factores de transcripción, secuencias potenciadoras de la transcripción y secuencias de

terminación de la transcripción. Las "secuencias de control" pueden incluir secuencias directrices (péptidos de señal) y/o secuencias de miembros de fusión.

Según se usa en la presente, el término "ligado operativamente" significa que los componentes abarcados por el término se hallan en una relación que les permite llevar a cabo sus funciones inherentes bajo condiciones apropiadas.

El término "vector" hace referencia a cualquier molécula o entidad (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido, bacteriófago o virus) usada para transferir información que codifica proteínas a una célula hospedera. El término "vector de expresión" o "construcción de expresión" hace referencia a un vector que es apropiado para transformar una célula hospedera y contiene secuencias de ácidos nucleicos que dirige y/o controla (en combinación con la célula hospedera) la expresión de una o más regiones codificantes heterólogas unidas operativamente. Una construcción de expresión puede incluir, pero en un sentido no taxativo, secuencias que afectan o controlan la expresión, la traducción, y si hay intrones presentes, afectan la separación del ARN de una región codificante unida operativamente.

El término "célula hospedera" se refiere a una célula que ha sido transformada o puede ser transformada con una secuencia de ácido nucleico, por lo que expresa un gen de

interés. El término incluye la progenie de la célula progenitora, ya sea que dicha progenie tenga una morfología o una composición genética idéntica o no a la de la célula progenitora original, siempre que esté presente el gen de interés.

El término "transformación" hace referencia a un cambio en las características genéticas de las células, y una célula ha sido transformada cuando ha sido modificada para que contenga nuevo ADN o ARN. Por ejemplo, una célula está transformada cuando ha sido modificada genéticamente respecto de su estado nativo mediante la introducción de nuevo material genético utilizando procedimientos de transfección, transducción u otros. Después de la transfección o la transducción, el ADN transformante puede recombinarse con el de la célula integrándolo físicamente en un cromosoma de la célula, puede mantenerse de manera transitoria como un elemento episomal, sin que se replique, o puede replicarse independientemente como un plásmido. Se considera que una célula ha sido "transformada de manera estable" cuando el ADN transformante se replica al dividirse la célula.

El término "transfección" se refiere a la captación de ADN extraño o exógeno por una célula. En la técnica se conocen numerosos procedimientos de transformación, los cuales se describen en la presente. Véanse, por ejemplo,

Graham *et al.*, 1973, *Virology* 52: 456; Sambrook *et al.*, 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, *supra*; Davis *et al.*, 1986, *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier; Chu *et al.*, 1981, *Gene* 13: 197.

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

Los términos "polipéptido" o "proteína" se refieren a una macromolécula que tiene la secuencia de aminoácidos de una proteína, incluyendo supresiones, adiciones y/o sustituciones de uno o más aminoácidos de la secuencia nativa. Los términos "polipéptido" y "proteína" abarcan específicamente las moléculas de unión al antígeno FLT3, los anticuerpos o las secuencias que tienen supresiones, adiciones y/o sustituciones de uno o más aminoácidos de la proteína de unión al antígeno. El término "fragmento de polipéptido" hace referencia a un polipéptido que tiene una supresión amino-terminal, una supresión carboxilo-terminal y/o una supresión interna, en comparación con la proteína nativa de longitud completa. Estos fragmentos también pueden contener aminoácidos modificados en comparación con la proteína nativa. Los fragmentos de polipéptidos que son de utilidad incluyen fragmentos inmunológicamente funcionales de

las moléculas de unión a antígenos. Los fragmentos que son de utilidad incluyen, pero en un sentido no taxativo, una o más regiones CDR, dominios variables de una cadena pesada y/o liviana, una porción de otras porciones de una cadena de anticuerpo y semejantes.

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

Una "variante" de un polipéptido (por ejemplo, una molécula de unión al antígeno o un anticuerpo) comprende una secuencia de aminoácidos donde se ha insertado, suprimido y/o reemplazado uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos, en comparación con otra secuencia de polipéptido. Las variantes incluyen las proteínas de fusión.

El término "identidad" hace referencia a una relación entre las secuencias de dos o más moléculas de polipéptidos,

o dos o más moléculas de ácidos nucleicos, determinada alineando y comparando las secuencias. El "porcentaje de identidad" hace referencia al porcentaje de residuos idénticos entre los aminoácidos o los nucleótidos en las moléculas comparadas, y se calcula sobre la base del tamaño de la más pequeña de las moléculas a comparar. Para estos cálculos, las faltas de coincidencia en los alineamientos (si hubiere alguna) se tratan preferiblemente con un modelo o un programa informático particular (es decir, un "algoritmo").

Para calcular el porcentaje de identidad, las secuencias a comparar se alinean de una manera que proporciona la coincidencia más grande entre las secuencias. Un ejemplo de un programa informático para determinar el porcentaje de identidad es el conjunto de programas GCG, que incluye GAP (Devereux et al., 1984, *Nucl. Acid Res.*, 12: 387; *Genetics Computer Group*, University of Wisconsin, Madison, Wis.). El algoritmo informático GAP se usa para alinear dos polipéptidos o polinucleótidos cuyo porcentaje de identidad de secuencia se desea determinar. Las secuencias se alinean de modo de obtener una coincidencia óptima de sus aminoácidos o nucleótidos respectivos (la "extensión de coincidencia" determinada por el algoritmo). En determinadas formas de realización, el algoritmo también emplea una matriz de comparación convencional (véanse Dayhoff et al., 1978, *Atlas*

of Protein Sequence and Structure 5: 345-352 con relación a la matriz de comparación PAM 250; Henikoff et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89: 10915-10919 con relación a la matriz de comparación BLOSUM 62).

Tal como se utilizan aquí, los veinte aminoácidos convencionales (por ejemplo, naturales) y sus abreviaturas se emplean según el uso convencional. Véase *Immunology - A Synthesis* (2^a Edición, Golub y Gren, Eds., Sinauer Assoc., Sunderland, Mass. (1991)), incorporada en la presente a modo de referencia para todo propósito. Los estereoisómeros (por ejemplo, D-aminoácidos) de los veinte aminoácidos convencionales, aminoácidos no naturales tales como aminoácidos α -, α -disustituidos, N-alquilaminoácidos, ácido láctico y otros aminoácidos no convencionales también pueden ser componentes adecuados para los polipéptidos de la presente invención. Los ejemplos de aminoácidos no convencionales incluyen: 4-hidroxiprolina, gamma-carboxiglutamato, épsilon-N,N,N-trimetilisina, e-N-acetilisina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, sigma-N-metilarginina y otros aminoácidos e iminoácidos similares (por ejemplo, 4-hidroxiprolina). En la notación de polipéptidos usada en la presente, la dirección hacia la izquierda es la dirección amino terminal y la dirección hacia

la derecha es la dirección carboxilo terminal, de acuerdo con la convención y el uso estándar.

Las sustituciones de aminoácidos conservadoras pueden abarcar residuos de aminoácidos no naturales, que típicamente se incorporan mediante síntesis química de péptidos en lugar de síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos y otras formas revertidas o invertidas de grupos de aminoácidos. Los residuos naturales se pueden dividir en clases basado en las propiedades comunes de la cadena lateral:

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

Por ejemplo, las sustituciones no conservadoras pueden comprender el intercambio de un miembro de una de las clases anteriores por un miembro de otra clase. Dichos residuos sustituidos se pueden introducir, por ejemplo, en las regiones del anticuerpo que son homólogas de los anticuerpos no humanos o en regiones no homólogas de la molécula.

Al efectuar cambios en la molécula de unión al antígeno,

los dominios coestimulantes o activadores de la célula T modificada, de acuerdo con determinadas formas de realización, se puede considerar el índice hidropático de los aminoácidos. A cada aminoácido se le ha asignado un índice hidropático sobre la base de su hidrofobicidad y características de carga. Las mismas son: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9) y arginina (-4,5). Véase Kyte et al., *J. Mol. Biol.*, 157: 105-131 (1982). Se sabe asimismo que es posible sustituir determinados aminoácidos por otros aminoácidos que tienen un índice o calificación hidropático similar y aún retener una actividad biológica similar. Se sabe asimismo en la técnica que se puede lograr eficazmente la sustitución de aminoácidos iguales sobre la base de la hidrofobicidad, en particular cuando se pretende utilizar la proteína o péptido biológicamente funcional así creada en formas de realización inmunológicas, como en el presente caso. En la TABLA 2 se muestran ejemplos de sustituciones de aminoácidos.

Tabla 2

Residuos originales	Ejemplos de sustituciones	Sustituciones preferidas
Ala	Val; Leu; Ile	Val
Arg	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser; Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	pro, ala	Ala
His	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, norleucina	Leu
Leu	norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4-diamino- butírico	Arg
	ácido, Gln, Asn	
Met	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe	Val; Leu; Ile	Leu
	Tyr	
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr; Phe	Tyr
Tyr	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe,	Leu

	Ala, Norleucina	
--	-----------------	--

El término "derivado" hace referencia a una molécula que incluye una modificación química distinta de una inserción, una supresión o una sustitución de aminoácidos (o ácidos nucleicos). En determinadas formas de realización, los derivados comprenden modificaciones covalentes, incluyendo, pero en un sentido no taxativo, la unión química con polímeros, lípidos u otras unidades orgánicas o inorgánicas. En determinadas formas de realización, una molécula de unión al antígeno que ha sido sometida a una modificación química puede tener una vida media en circulación más prolongada que una molécula de unión al antígeno que no ha sido sometida a una modificación química. En algunas formas de realización, un derivado de una molécula de unión al antígeno ha sido modificado por medios covalentes para incluir uno o más polímeros unidos solubles en agua, incluyendo, pero en un sentido no taxativo, polietilenglicol, polioxietilenglicol o polipropilenglicol.

Los análogos de péptidos se usan comúnmente en la industria farmacéutica como drogas no peptídicas con propiedades análogas a las del péptido templado. Estos tipos de compuestos no peptídicos se denominan "péptidos miméticos" o "peptidomiméticos". Fauchere, J., *Adv. Drug Res.*, 15: 29

(1986); Veber y Freidinger, *TINS*, página 392 (1985); y Evans et al., *J. Med. Chem.*, 30: 1229 (1987), que se incorporan en la presente a modo de referencia para cualquier propósito.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de una molécula de unión al antígeno FLT3 determinada para producir una respuesta terapéutica en un mamífero. Un especialista en la técnica puede determinar fácilmente dichas cantidades terapéuticamente eficaces.

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

Los términos "tratar" y "tratamiento" incluyen tratamientos terapéuticos, tratamientos profilácticos y aplicaciones donde se reduce el riesgo de que un sujeto desarrolle un trastorno, u otro factor de riesgo. El tratamiento no requiere la curación completa de un trastorno y abarca formas de realización donde se reducen los síntomas o los factores de riesgo subyacentes. El término "prevenir" no requiere una eliminación de 100% de la posibilidad de un evento. En su lugar, indica que la probabilidad de que el acontecimiento ocurra ha sido reducida en presencia del

compuesto o el método.

Se pueden utilizar técnicas estándar para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos y cultivo y transformación de tejidos (por ejemplo, electroporación, lipofección). Las reacciones enzimáticas y los procedimientos de purificación se pueden llevar a cabo de acuerdo con las especificaciones de los proveedores, de maneras conocidas en la técnica o como se describe en la presente. Las técnicas y los procedimientos mencionados en general se pueden llevar a cabo de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y describen en toda la presente descripción. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2^a edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), cuyo contenido se incorpora en la presente a modo de referencia para cualquier propósito.

Las siguientes secuencias servirán como ejemplos adicionales de la invención.

ADN extracelular, transmembrana, intracelular de CD28T

CTTGATAATGAAAAGTC

AAACGGAACAATCATTCACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGT
CCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGC
TCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAG

CGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTAC
GCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC (SEQ ID NO: 1)

AA extracelular, transmembrana, intracelular de CD28T:

LDNEKSNGTI IHVKGKHLCP SPLFPGPSKP FWVLVVVGGV LACYSLLVTV
AFIIFWVRSK RSRLHSDYM NMTPRRPGPT RKHYQPYAPP RDFAAYRS (SEQ ID
NO: 2)

ADN: extracelular de CD28T

CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTCACGTGAAGGGCAAGCACCTCTG
TCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCA (SEQ ID NO: 3)

AA: extracelular de CD28T

LDNEKSNGTI IHVKGKHLCP SPLFPGPSKP (SEQ ID NO: 4)

ADN del dominio transmembrana de CD28

TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCAC
CGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTT (SEQ ID NO: 5)

AA del dominio transmembrana de CD28

FWVLVVVGGV LACYSLLVTV AFIIFWV (SEQ ID NO: 6)

ADN del dominio intracelular de CD28

AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCG
CCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTAT
CGGAGC (SEQ ID NO: 7)

AA del dominio intracelular de CD28

RSKRSRLHSDYMNMTTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO: 8)

ADN de CD3 zeta

AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCA

ACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGA
 GGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATA
 ATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCG
 GAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACT
 TATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO: 9)

AA de CD3 zeta

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQE
 GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ
 ID NO: 10)

ADN de CD28

ATTGAGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACGGTACCAT
 CATTACGTGAAAGGTAAACACCTGTGTCTTCTCCCCTCTTCCCCGGGCCATCAAAGCCC
(SEQ ID NO: 11)

AA de CD28

IEVMYPPPILO DNEKSNGTII HVKGKHLCPs PLFPGPSKP (SEQ ID NO:
 12)

ADN del dominio extracelular y transmembrana de CD8

GCTGCAGCATTGAGCAACTCAATAATGTATTTTAGTCACTTTGTACCAGTGTTCCT
 GCCGGCTAAGCCTACTACCACACCCGCTCCACGGCCACCTACCCCAGCTCCTACCATCGCT
 TCACAGCCTCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCTTGCCGACCGGCCGCAGGGGGCGCTGTTCATA
 CCAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGCCGGAACCTGCGG
 CGTACTCCTGCTGTCCCTGGTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGAAC (SEQ ID NO:
 13)

AA del dominio extracelular y transmembrana de CD8

AAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG
 AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN (SEQ ID NO: 14)

ADN del clon 10E3 HC

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGTGCTGGTGAAACCCACAGAGACCCTCAC
 GCTGACCTGCACCGTCTCTGGGTTCTCACTCATCAATGCTAGAATGGGTGTGAGCTGGATC
 CGTCAGCCCCCAGGGAAGGCCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTTTTCGAATGCCGAAAAAT
 CGTACAGGACATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAAGGACACCTCCAAAAGCCAGGT
 GGTCCCTTACCATGACCAACATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTACTGTGCACGGATA
 CCAGGCTACGGTGGTAACGGGGACTACCACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
 CCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 15)

AA del clon 10E3 HC - Las CDR están subrayadas

QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLINARMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSN
AEKSYRTSLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDTATYYCARIPGYGGNGDYHYYGMDV
 W
 GQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 16)

AA del clon 10E3 HC de la CDR1: NARMGV (SEQ ID NO:
17)

AA del clon 10E3 HC de la CDR2: HIFSNAEKSYRTSLKS (SEQ
ID NO: 18)

AA del clon 10E3 HC de la CDR3: IPGYGGNGDYHYYGMDV
(SEQ ID NO: 19)

ADN del clon 10E3 LC

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTCTAGGAGACAGAGT
 CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAA
 CCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTTCATCCACTTTGCAAAGTGGGGTCCCAT

CAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCC
 TGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAATTTCCCGTGGACGTTTCGGTCAG
 GGAACGAAGGTGGAAATCAAACGA (SEQ ID NO: 20)

AA del clon 10E3 LC (las CDR están subrayadas)

DIQMTQSPSSLSASLGDRVTTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYASSTLQS
 GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID
NO: 21)

AA del clon 10E3 LC de la CDR1: RASQGIRNDLG (SEQ ID
NO: 22)

AA del clon 10E3 LC de la CDR2: ASSTLQS (SEQ ID NO:
23)

AA del clon 10E3 LC de la CDR3: LQHNNFPWT (SEQ ID
NO: 24)

ADN del clon 2E7 HC

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGTGCTGGTGAAACCCACAGAGACCCTCAC
 GCTGACCTGCACCGTCTCTGGGTTCTCACTCAGGAATGCTAGAATGGGTGTAAGCTGGATC
 CGTCAGCCTCCCGGGAAGGCCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTTTTCGAATGACGAAAAA
 CCTACAGCACATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAGGGACACCTCCAAAGGCCAGGT
 GGTCTTACCATGACCAAGATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTACTGTGCACGGATA
 CCCTACTATGGTTCGGGGAGTCATAACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGG
 TCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 25)

AA del clon 2E7 HC (las CDR están subrayadas)

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLRNARMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSN
DEKTYSTSLKSRLTISRDTSGQVVLTMTKMDPVDATYYCARIPYYGSGSHNYGMDVWGQ

GTTVTVSS (SEQ ID NO: 26)

AA del clon 2E7 HC de la CDR1:NARMGVS (SEQ ID NO: 17)

AA del clon 2E7 HC de la CDR2:HIFSNDEKTYSTSLKS (SEQ ID NO: 99)

AA del clon 2E7 HC de la CDR3:IPYYGSGSHNYGMDV (SEQ ID NO: 27)

ADN del clon 2E7 LC

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT
CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGACATTAGAAATGATTTCGGCTGGTATCAACAGAAA
CCAGGGAAAGCCCCTCAGCGCCTGCTCTATGCTGCATCCACTTTGCAAAGTGGGGTCCCAT
CAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCC
TGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGTATAATACTTACCCGTGGACGTTTCGGTCAG
GGAACGAAGGTGGAAATCAAACGA (SEQ ID NO: 28)

AA del clon 2E7 LC (las CDR están subrayadas)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNDFGWYQQKPGKAPQRLLYAASTLQS
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYNTYPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 29)

AA del clon 2E7 LC de la CDR1:RASQDIRNDFG (SEQ ID NO: 30)

AA del clon 2E7 LC de la CDR2:AASTLQS (SEQ ID NO: 31)

AA del clon 2E7 LHC de la CDR3: LQYNTYPWT (SEQ ID NO: 32)

ADN del clon 8B5 HC

CAGATACAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAG

ACTCTCCTGTGTAGCGTCTGGATTACCTTCAAGAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAG
 GCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATTTGGTATGATGGAAGTAATGAATACT
 ATGGAGACCCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACTCCAAGAACATGTTGTA
 TCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGATGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGTCGGGA
 ATAGCAGTGGCTGGGGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
 (SEQ ID NO: 33)

AA del clon 8B5 HC (las CDR están subrayadas)

QIQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFKNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGS
NEYYGDPVKGRFTISRDNSKNMLYLQMNSLRADDTAVYYCARSGIAVAGAFDYWGQGTLVT
 VSS (SEQ ID NO: 34)

AA del clon 8B5 HC de la CDR1:NYGMH (SEQ ID NO: 34)

AA del clon 8B5 HC de la CDR2:VIWYDGSNEYYGDPVKG (SEQ ID
 NO: 35)

AA del clon 8B5 HC de la CDR3:SGIAVAGAFDY (SEQ ID NO:
 36)

ADN del clon 8B5 LC

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGACACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAAAGC
 CACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTTCTTGGCCTGGTACCAGCAG
 AAACCTGGACAGGCTCCCAGTCTCCTCATCTATGTTGCATCCAGAAGGGCCGCTGGCATCC
 CTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGA
 GCCTGAAGATTTTGAATGTTTTACTGTCAACACTATGGTAGGACACCATTCACTTTTCGGC
 CCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGA (SEQ ID NO: 37)

AA del clon 8B5 LC (las CDR están subrayadas)

EIVLTQSPDTLSLSPGEKATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPSLLIYVASRRA

AGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFGMFYCQHYGRTPFTFGPGTKVDIKR (SEQ ID NO: 41)

AA del clon 8B5 LC de la CDR1:RASQSVSSSFLA (SEQ ID NO: 38)

AA del clon 8B5 LC de la CDR2:VASRRAA (SEQ ID NO: 39)

AA del clon 8B5 LC de la CDR3:QHYGRTPFT (SEQ ID NO: 40)

ADN del clon 4E9 HC

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATACACTGGGTGCGACAG
GCCCTGAACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAACCT
ATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGGCCAGGGACACGTCCATCAGCACAGTTTA
CATGGACCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAATACGC
GGTGGTAACTCGGTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 41)

AA del clon 4E9 HC (las CDR están subrayadas)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIHWVRQAPEQGLEWMGWINPNSG
GTNYAQKFQGRVTMARDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYCARIRGGNSVFDYWGQGT
LVTVSS (SEQ ID NO: 42)

AA del clon 4E9 HC de la CDR1:GYYIH (SEQ ID NO: 43)

AA del clon 4E9 HC de la CDR2:WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO: 44)

AA del clon 4E9 HC de la CDR3:IRGGNSVFDY (SEQ ID NO: 45)

ADN del clon 4E9 LC

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGC
 CACCATCAACTGCAAGTCCACCCAGAGTATTTTATACACCTCCAACAATAAGAACTTCTTA
 GCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAACTGCTCATTTCCTGGGCATCTATCC
 GGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTGCTCTCAC
 CATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAACAATATTTTAGTACT
 ATGTTAGTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGA (SEQ ID NO: 46)

AA del clon 4E9 LC (las CDR están subrayadas)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSTQSILYTSNNKNFLAWYQQKPGQPPKLLISW
ASIRESGVPDRFSGSGGTDFALTISSLQAEDVAVYYCQQYFSTMFSFGQGTKLEIKR
 (SEQ ID NO: 47)

AA del clon 4E9 LC de la CDR1:KSTQSILYTSNNKNFLA (SEQ ID
 NO: 48)

AA del clon 4E9 LC de la CDR2:WASIRES (SEQ ID NO: 49)

AA del clon 4E9 LC de la CDR3:QQYFSTMFS (SEQ ID NO: 50)

ADN del clon 11F11 HC

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTC
 CCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTGGTGCATACTACTGGACTTGGATC
 CGCCAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCCATTACAGTGGGAGCACCT
 ACTCCAACCCGTCCTCAAGAGTCGAATTACCATATCGTTAGACACGTCTAAGAACCAGTT
 CTCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACAA
 GAGGACTACGGTGGTTTGTGTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTTTCCTCA
 (SEQ ID NO: 51)

AA del clon 11F11 HC (las CDR están subrayadas)

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGAYYWTWIRQHPGKGLEWIGYIHYS

GSTYSNPSLKSRITISLDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARQEDYGGLFDYWGQGTTLVT

VSS (SEQ ID NO: 52)

AA del clon 11F11 HC de la CDR1: SGAYYWT (SEQ ID NO: 53)

AA del clon 11F11 HC de la CDR2: YIHYSGSTYSNPSLKS
(SEQ ID NO: 54)

AA del clon 11F11 HC de la CDR3: QEDYGGLFDY (SEQ ID NO: 55)

ADN del clon 11F11 LC

GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAAT
CACCCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTACCACCGACTTAGCCTGGTACCAGCAGATG
CCTGGACAGGCTCCCCGGCTCCTCATCTATGATGCTTCCACCAGGGCCACTGGTTTCCCAG
CCAGATTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACGCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGC
TGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAACATTATAAAACCTGGCCTCTCACTTTCGGCGGA
GGGACTAAGGTGGAGATCAAACGA (SEQ ID NO: 56)

AA del clon 11F11 LC (las CDR están subrayadas)

EIVMTQSPATLSVSPGERITLSCRASQSVTTDLAWYQQMPGQAPRLLIYDASTRAT
GFPARFSGSGGTDFLTISLQAEDFAVYYCQHYKTWPLTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 57)

AA del clon 11F11 LC de la CDR1: RASQSVTTDLA
(SEQ ID NO: 58)

AA del clon 11F11 LC de la CDR2: DASTRAT (SEQ ID NO: 59)

AA del clon 11F11 LC de la CDR3: QHYKTWPLT (SEQ ID

NO: 60)

ADN de la construcción 10E3 CD28 (la secuencia señal
está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTA**ACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCG**
ACGCCCCGCAGGTGACCCTCAAAGAGTCTGGACCCGTGCTCGTAAACCTACGGAGACCCTG
ACACTCACCTGCACAGTCTCCGGCTTCAGCCTCATCAATGCCAGGATGGGAGTTTCCTGGA
TCAGGCAACCGCCCGGAAAGGCCCTGGAATGGCTCGCACATATTTTCAGTAACGCTGAAAA
AAGCTATCGGACTTCTCTGAAAAGTCGGCTCACGATTAGTAAGGACACATCCAAGAGCCAA
GTGGTGCTTACGATGACTAACATGGACCCTGTGGATACTGCAACCTATTACTGTGCTCGAA
TCCCTGGTTATGGCGGAAATGGGGACTACCACTACTACGGTATGGATGTCTGGGGCCAAGG
GACCACGGTTACTGTTTCAAGCGGAGGGGGAGGGAGTGGGGGTGGCGGATCTGGCGGAGGA
GGCAGCGATATCCAGATGACGCAGTCCCCTAGTTCACTTTCCGCATCCCTGGGGGATCGGG
TTACCATTACATGCCGCGCGTCACAGGGTATCCGGAATGATCTGGGATGGTACCAGCAGAA
GCCGGGAAAGGCTCCTAAGCGCCTCATCTACGCCAGCTCCACCCTGCAGAGTGGAGTGCCC
TCCCGGTTTTTCAGGCAGTGGCTCCGGTACGGAGTTTACTCTTACAATTAGCAGCCTGCAGC
CAGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTTTGCAGCATAATAATTTCCCCTGGACCTTTGGTCA
GGGCACCAAGGTGGAGATCAAAAGAGCAGCCGCCATCGAAGTAATGTATCCCCCCCCGTAC
CTTGACAATGAGAAGTCAAATGGAACCATTATCCATGTTAAGGGCAAACACCTCTGCCCTT
CTCCACTGTTCCCTGGCCCTAGTAAGCCGTTTTTGGGTGCTGGTGGTAGTCGGTGGGGTGCT
GGCTTGTTACTCTCTTCTCGTGACCGTCGCCTTTATAATCTTTTGGGTCAGATCCAAAAGA
AGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGA
AACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATT
TTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTG
AACCTGGGTGCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGA

TGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGA
 CAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGT
 CACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACA
 TGCAGGCACTGCCCCCAGCTAG (SEQ ID NO: 61)

AA de la construcción 10E3 CD28 (la secuencia señal está en negritas; las CDR están subrayadas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLINARMG
VSWIRQPPGKALEWLAHIFSNAEKSYRTSLKSRLTISKDTSKSQVVLTMNMDPVDTATYY
 CARIPGYGGNGDYHYYGMDVWQGGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASL
 GDRVTTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYASSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS
 SLQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQGTKVEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKH
 LCPSPLFPGPSKPFVVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPG
 PTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR
 DPEMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYD
 ALHMQALPPR (SEQ ID NO: 62)

ADN de la construcción 10E3 CD28T (la secuencia señal está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCCGCAAGTTACTTTGAAGGAGTCTGGACCTGTACTGGTGAAGCCAACCGAGACACTG
 AACTCACGTGTACAGTGAGTGGTTTTTCCTTGATCAACGCAAGGATGGGCGTCAGCTGGA
 TCAGGCAACCCCCTGGCAAGGCTCTGGAATGGCTCGCTCACATATTCAGCAATGCCGAAAA
 AAGCTACCGGACAAGCCTGAAATCCCGCCTGACTATTTCCAAGGACACTTCTAAGTCTCAG
 GTGGTGCTGACCATGACCAACATGGACCCGGTGGACACCGCCACCTATTACTGCGCAAGAA
 TCCCTGGGTATGGTGGGAATGGTGACTACCATTATTATGGGATGGATGTGTGGGGGCAAGG

CACAACCGTAACGGTCTCAAGCGGTGGGGGAGGCTCAGGGGGCGGAGGCTCCGGAGGTGGC
 GGCTCCGACATTCAGATGACCCAAAGCCCGTCCAGCCTGTCCGCCAGCCTGGGAGATAGAG
 TGACAATCACGTGTAGAGCTTCCCAAGGGATAAGAAATGATCTCGGGTGGTATCAGCAGAA
 GCCCGGCAAAGCCCCCAAAGGCTTATATATGCTAGTAGTACACTGCAGTCTGGAGTTCCT
 TCCCGATTTTCAGGTAGCGGCTCCGGTACAGAGTTCACCCTCACGATAAGCTCACTCCAGC
 CTGAGGATTTTCGCAACGTACTACTGCCTCCAGCACAACAATTTTCCCTGGACTTTTCGGCCA
 GGGCACCAAGGTGGAGATCAAGAGGGCCGCTGCCCTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACA
 ATCATTCACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGC
 CATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCACCGT
 GGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATG
 AATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTA
 GAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTA
 TCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTTCGCAGAGAAGAGTACGAC
 GTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATC
 CTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGAT
 CGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGT
 ACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCCACGCTAG

(SEQ ID NO: 63)

AA de la construcción 10E3 CD28T (la secuencia señal
está en negritas; las CDR están subrayadas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLINARMG
VSWIRQPPGKALEWLAHIFSNAEKSYRTSLKSRLTISKDTSKSQVVLTMNMDPVDTATYY
 CARIPGYGGNGDYHYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASL
 GDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYASSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS

SLQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLFPG
 PSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPY
 APPRDFAAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPR
 RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP
 R (SEQ ID NO: 64)

ADN de la construcción 10E3 CD8 (la secuencia señal está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCCGCAGGTGACACTCAAGGAATCAGGGCCCGTACTGGTGAAACCTACTGAGACCCTG
 AACTGACTTGACACCGTGTCTGGGTCTCTCTGATTAACGCTCGAATGGGTGTGAGTTGGA
 TACGCCAGCCTCCAGGGAAGGCTCTGGAGTGGTTGGCCACATTTTCTCCAACGCCGAGAA
 GAGCTACAGGACTAGTCTGAAGTCCAGACTTACCATTTCCAAAGACACAAGTAAATCACAG
 GTGGTGCTGACAATGACAAACATGGACCCGGTTGATACTGCTACCTATTATTGTGCCCGCA
 TTCCCGGCTACGGCGGCAATGGCGACTATCACTATTATGGTATGGATGTCTGGGGGCAGGG
 GACCACTGTTACCGTGTCCAGCGGGGGTGGTGGCAGCGGAGGTGGAGGGAGCGGTGGTGGG
 GGGAGTGATATTCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCTCTTTCCGCTTCTCTGGGCGATAGAG
 TCACCATCACCTGCCGGGCCTCTCAAGGCATCCGGAACGATCTTGATGGTATCAGCAGAA
 GCCCGGCAAGGCACCAAAAAGGCTGATCTACGCATCAAGCACCTGCAATCTGGGGTGCCG
 TCCCGGTTTTCTGGTTCTGGTAGTGGGACCGAGTTTACTCTGACTATTTCTTCCCTGCAGC
 CTGAGGACTTTGCTACGTACTATTGTCTGCAGCATAACAACCTTCCCCTGGACGTTCTGGGCA
 GGGTACGAAAGTGGAATTAAGCGCGCCGCCGCCCTGTCCAACCTCATTATGTATTTCTCT
 CATTTTGTCCCAGTGTTCTGCCCCGCTAAACCCACAACCTACTCCGGCGCCCCGACCGCCAA
 CTCCCGCACCTACCATCGCAAGCCAGCCATTGAGCCTCCGACCTGAGGCATGTAGACCAGC
 AGCCGGCGGTGCCGTGCACACAAGGGGACTGGATTTGCGCTGCGACATATATATTTGGGCC

CCTCTGGCTGGAACCTGTGGGGTTCTGCTGCTCTCTCTCGTTATTACACTGTATTGCAATC
 ATCGCAATAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACG
 CCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCC
 TATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGA
 ATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACG
 CCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTG
 TACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCG
 AGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGA
 CACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 65)

AA de la construcción 10E3 CD8 (la secuencia señal está en negritas; las CDR están subrayadas)

MALPVTALLPLALLHAARPQVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLINARMG
VSWIRQPPGKALEWLAHIFSNAEKSYRTSLKSRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDTATYY
 CARIPGYGGNGDYHYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASL
 GDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYASSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS
 SLQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQGTKVEIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAP
 RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL
 YCNHRNRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQ
 QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
 MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 66)

ADN de la construcción 8B5 CD28 (la secuencia señal está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCGCCAGATCCAGTTGGTGGAATCAGGGGGCGGTGTGGTGCAGCCGGGTAGGAGCCTG

AGACTGTCATGCGTGGCGTCTGGCTTCACATTCAAGAACTACGGCATGCACTGGGTGCGAC
AGGCCCCCGGAAAGGGTTTGGAGTGGGTCGCCGTGATCTGGTACGACGGATCTAATGAGTA
TTACGGAGATCCTGTGAAGGGAAGGTTACCATCTCCCGCGACAATAGCAAAAATATGCTC
TACCTGCAAATGAACTCACTCAGGGCGGATGATACGGCGGTCTACTATTGCGCTCGCTCAG
GGATTGCTGTGGCCGGCGCATTCGATTACTGGGGACAGGGTACCCTGGTGACAGTATCAAG
CGGAGGCGGCGGCTCTGGCGGCGGCGGATCTGGCGGGGGGGGAAGTGAGATTGTGTTGACA
CAGTCTCCCGATACCCTGTCACTGTCACCCGGCGAGAAGGCAACGCTGAGTTGCAGAGCAA
GCCAGTCAGTCTCCTCTTCTTTTCTGGCCTGGTATCAGCAAAAACCAGGTCAGGCACCATC
TCTCCTGATTTACGTTGCCAGCAGACGGGCGGCTGGCATTCCCGACAGGTTCTCTGGAAGC
GGATCTGGGACCGATTTTACCCTGACAATTAGCCGCTTGAGCCCCGAAGACTTTGGTATGT
TTTACTGCCAGCACTACGGAAGGACACCTTTCACATTTGGCCCGGGCACGAAAGTCGATAT
AAAACGCGCAGCCGCCATTGAAGTAATGTACCCACCACCTTATTTGGACAATGAAAAGTCC
AATGGTACCATTATTCACGTCAAGGGAAGCATCTCTGTCCAAGCCCTCTGTTCCCCGGCC
CCTCCAAACCATTCTGGGTGCTGGTGGTCGTCGGCGGAGTTCTGGCCTGCTATTCTCTGCT
CGTGACTGTTGCATTCATCATTTTCTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGC
GATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACG
CACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGC
TCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGAGAGAA
GAGTACGACGTTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAA
GGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTA
CTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAG
GGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCAC
GCTAG (SEQ ID NO: 67)

AA de la construcción 8B5 CD28 (la secuencia señal está

en negritas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQIQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFKNYGMH
WVRQAPGKGLEWVAVIWDGSNEYYGDPVKGRFTISRDN SKNMLYLQMN SLRADD TAVYYC
ARSGIAVAGAFDYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPDTLSLSPGEKATLS
CRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPSL LIYVASRRAAGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED
FGMFY CQHYGRTPFTFGPGTKVDIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPL
FPGPSKPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHY
QPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG
KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA
LPPR (SEQ ID NO: 68)

ADN de la construcción 8B5 CD28T (la secuencia señal
está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCCGCAGATTCAGCTCGTGGAGTCAGGTGGTGGCGTGGTTCAGCCCGGACGGTCCCTG
CGACTCTCTTGTGTGGCAAGCGGATTTACCTTTAAGAACTATGGCATGCACTGGGTGAGGC
AGGCCCTTGAAAAGGACTGGAGTGGGTTGCTGTGATCTGGTACGACGGGTCCAACGAATA
TTATGGCGATCCTGTGAAGGGACGGTTTACAATCTCACGCGATAACTCAAAGAACATGCTG
TACCTGCAAATGAACTCTCTGCGCGCTGATGACACTGCCGTGTATTATTGCGCTCGGAGTG
GTATCGCCGTCGCAGGAGCATTTGATTATTGGGGGCAAGGGACCCTCGTGACAGTGAGTTC
CGGAGGGGGAGGTTCTGGTGGAGGCGGCTCTGGTGGGGGAGGCAGCGAGATCGTTCTGACC
CAGTCTCCTGACACACTGTCACTGTCCCCTGGTGAAAAGGCCACACTGTCTTGTAGAGCGT
CCCAGAGCGTTTCCAGTTCCTTCCTTGCATGGTATCAACAAAAACCCGGGCAGGCTCCAAG
CTTGCTGATCTACGTGGCCAGCCGCCGGGCCGAGGCATCCCTGATAGGTTTAGCGGTTCT
GGGAGCGGGACGGA CTTACCTTGACAATATCACGGCTGGAACCCGAAGACTTCGGAATGT

TTTATTGCCAGCACTACGGAAGAACTCCATTACCTTTGGCCCGGGAACGAAGGTAGACAT
 CAAGAGAGCAGCAGCCCTCGACAACGAGAAATCCAATGGAACCATTATCCATGTGAAGGGG
 AAACATCTCTGCCCTTCACCATTGTTCCCTGGACCCAGCAAGCCTTTTTGGGTTCTGGTCG
 TGGTGGGGGGCGTCCTGGCTTGTTACTCCCTCCTCGTTACAGTCGCCTTCATAATCTTTTG
 GGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGC
 CCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATC
 GGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCA
 ACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGG
 GGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACA
 ACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCG
 GAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACC
 TATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 69)

AA de la construcción 8B5 CD28T (la secuencia señal está en negritas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQIQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFKNYGMH
 WVRQAPGKGLEWVAVIWDGSNEYYGDPVKGRFTISRDN SKNMLYLQMNSLRADDTAVYYC
 ARSGIAVAGAFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPDTLSLSPGEKATLS
 CRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPSLLIYVASRRAAGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED
 FGMFYCQHYGRTPFTFGPGTKVDIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFW
 VLVVVGVLACYSLLVTVAFIIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF
 AAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQE
 GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ
 ID NO: 70)

ADN de la construcción 8B5 CD8 (la secuencia señal está

en negritas)

ATGGCACTCCCCGTA**ACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC**
ACGCCCCGCAGATACAGCTTGTCGAATCCGGTGGCGGGGTGGTGCAGCCTGGACGCAGCCTG
 CGGCTTTCTTGCGTGGCCAGCGGATTTACCTTCAAGAACTACGGGATGCATTGGGTCCGCC
 AGGCACCCGGCAAAGGCCTTGAGTGGGTGTCAGTGATCTGGTACGACGGCAGTAACGAGTA
 TTATGGCGACCCCGTGAAGGGAAGGTTTACTATTTCAAGAGATAATAGTAAGAACATGTTG
 TATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCGGACGACACTGCCGTGTACTACTGTGCTCGCTCCG
 GCATCGCTGTGGCAGGGGCCTTTGACTACTGGGGTCAGGGGACGCTGGTCACGGTTAGTTC
 CGGGGGCGGTGGTTCCGGAGGAGGCGGTTCCGGCGGCGGCGGATCAGAAATCGTTCTTACT
 CAGAGTCCCGATACGCTGTCCTTGCTCTCCGGGAGAAAAAGCCACACTGAGCTGCCGAGCCT
 CACAGTCAGTAAGTTCTTCATTCCTCGCCTGGTACCAGCAAAAACCGGGGCAGGCCCTTC
 CCTGCTTATCTACGTGGCCTCTAGGAGAGCCGCCGGTATTCCTGACCGGTTACGCGGAAGT
 GGTTCCGGGACTGATTTTACGCTCACGATCTCCCGATTGGAGCCCGAGGATTTCCGGGATGT
 TCTACTGTCAGCATTATGGAAGAACGCCCTTTACCTTCGGTCCGGGAACTAAGGTTGATAT
 TAAGCGGGCTGCTGCCCTTAGCAACTCCATCATGTATTTTCTCACTTCGTGCCAGTATTC
 CTGCCAGCCAAACCGACCACAACCCAGCACCTAGACCTCCTACTCCCGCTCCCACCATAG
 CTTACAGCCGCTGAGTTTGAGGCCAGAGGCCTGTCGGCCTGCTGCAGGCGGAGCAGTTCA
 CACCAGGGGACTTGACTTTGCATGTGACATCTATATTTGGGCTCCACTGGCGGGAACCTGC
 GGGGTGCTCCTTTTGTCACTCGTTATCACACTGTATTGCAATCATAGGAATAGATCCAAAA
 GAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAG
 GAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAA
 TTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGC
 TGAACCTGGGTGCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGA
 GATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAA

GACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGG
 GTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCA
 CATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 71)

AA de la construcción 8B5 CD8 (la secuencia señal está en negritas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQIQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFKNYGMH
 WVRQAPGKGLEWVAVIWDGSNEYYGDPVKGRFTISRDN SKNMLYLQMN SLRADDTAVYYC
 ARSGIAVAGAFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPDTLSLSPGEKATLS
 CRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPSL LIYVASRRAAGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED
 FGMFYCQHYGRTPFTFGPGTKVDIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPA
 PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN
 RSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQL
 YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR
 RGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 72)

ADN de la construcción 4E9 CD28 (la secuencia señal está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGTGGGGCAGAAGTAAAGAAGCCTGGTGCCTCTGTC
 AAAGTTAGTTGCAAAGCATCTGGGTATACTTTCACCGGTTACTATATCCATTGGGTTCGGC
 AGGCCCCGGAGCAGGGACTGGAGTGGATGGGCTGGATCAACCCAAATTCAGGCGGCACTAA
 CTATGCTCAAAAGTTCCAGGGCAGGGTCACAATGGCCCGGGATACTTCAATTAGCACCGTC
 TATATGGATCTTAGTCGGCTGCGCAGTGACGATACCGCTGTCTACTATTGCGCAAGGATCA
 GGGGCGGCAATTCTGTTTTT GACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACCGTCTCCTCTGG
 TGGAGGCGGTAGTGGTGGAGGCGGGTCCGGAGGAGGGGGCTCCGATATAGTGATGACTCAA

AGTCCCGATAGCTTGGCAGTATCTCTTGGGGAACGCGCCACTATTAAGTAAATCCACCC
 AGTCCATTCTCTATACCTCTAACAACAAGAATTTCTCGCGTGGTATCAGCAAAAACCCGG
 GCAGCCACCTAAACTGCTTATATCCTGGGCCAGCATCAGGGAGTCCGGCGTCCCTGATCGG
 TTCAGCGGTAGTGGCAGCGGGACAGACTTCGCTCTGACCATCAGTAGCCTCCAGGCTGAAG
 ATGTCGCAGTGTATTATTGCCAGCAGTACTTCAGCACGATGTTTAGCTTCGGGCAGGGAAC
 CAAGCTGGAAATAAAGAGAGCTGCAGCAATCGAGGTGATGTACCCACCTCCATATCTGGAC
 AATGAAAAGTCCAATGGCACTATCATAACGTGAAGGGCAAACACCTGTGTCCATCTCCAC
 TTTTCCCGGGCCCGTCTAAACCTTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGAGTTCTGGCCTG
 TTATTCACTGCTGGTCACCGTGGCTTTCATCATTTTTTTGGGTAAGATCCAAAAGAAGCCGC
 CTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACT
 ACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTCTGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAG
 ATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTG
 GGTCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGG
 GGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAAT
 GGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGAT
 GGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGG
 CACTGCCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 73)

AA de la construcción 4E9 CD28 (la secuencia señal está en negritas)

MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIH
 WVRQAPEQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMARDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYC
 ARIRGGNSVFDYWQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC
 KSTQSILYTSNNKNFLAWYQQKPGQPPKLLISWASIRESGVPDRFSGSGSGTDFAITISL
 QAEDVAVYYCQQYFSTMFSGGQGTKLEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLIC

PSPLFPGPSKPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPT
 RKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP
 EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL
 HMQALPPR (SEQ ID NO: 74)

ADN de la construcción 4E9 CD28T (la secuencia señal
 está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCCGCAGGTACAGCTGGTGCAGAGCGGGGCCGAGGTCAAAAAGCCCGGGGCTTCAGTT
 AAGGTTAGCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTTACCGGTTACTATATTCAGTGGGTTAGAC
 AGGCACCTGAGCAAGGACTGGAGTGGATGGGGTGGATTAACCCCAATAGCGGTGGGACCAA
 CTACGCCCAGAAGTTTCAAGGCCGAGTGACAATGGCACGAGACACCTCCATTTCCACTGTG
 TACATGGACTTGAGCCGCCTCAGGTCAGACGACACCGCAGTGTACTACTGTGCGGAATCC
 GCGGCGGAAACAGCGTGTTTGACTACTGGGGTCAGGGCACGTTGGTGACCGTGTCTTCCGG
 AGGGGGGGGATCTGGTGGCGGGGGCTCCGGCGGAGGCGGTAGTGATATTGTGATGACTCAG
 TCACCGGACAGTCTTGCTGTTTCACTTGGTGAGAGGGCCACCATAAATTGTAAAAGCACCC
 AGAGCATTCTCTACACATCTAACAACAAAAATTTCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGG
 ACAGCCACCCAAATTGCTGATTAGCTGGGCCAGCATTGAGAATCTGGGGTTCCGGACCGC
 TTTTCCGGGTCTGGCTCTGGGACCGACTTCGCTTTGACCATAAGCTCTCTTCAGGCCGAAG
 ACGTCGCAGTATACTATTGTCAACAGTATTTTTCTACCATGTTTTCTTCGGCCAGGGAAC
 TAAGTTGGAGATCAAGAGAGCAGCTGCATTGGATAATGAGAAGTCCAATGGCACTATTATC
 CACGTGAAAGGTAAACACCTGTGTCCCTCACCCCTGTTTCCAGGACCTAGTAAACCATTTCT
 GGGTCTTGGTTGTAGTCGGGGGCGTTTTGGCATGTTATTCCCTTCTTGTGACAGTCGCCTT
 TATCATTTTTCTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATG
 ACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATT

TCGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCA
 GGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGAGAGAAGAGTACGACGTTTTG
 GACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAG
 AAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCAT
 GAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCC
 ACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCCAGCTAG (SEQ ID
 NO: 75)

AA de la construcción 4E9 CD28T (la secuencia señal está
 en negritas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIH
 WVRQAPEQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMARDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYC
 ARIRGGNSVFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC
 KSTQSILYTSNNKNFLAWYQQKPGQPPKLLISWASIRESGVPDRFSGSGSGTDFALTISSL
 QAEDVAVYYCQQYFSTMFSFGQGTKLEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPS
 KPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAP
 PRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRK
 NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
 (SEQ ID NO: 76)

ADN de la construcción 4E9 CD8 (la secuencia señal está
 en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCGCAAGTTCAGCTTGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAAAACCAGGCGCCTCCGTT
 AAGGTGTCTTGCAAAGCCAGCGGATACACATTTACCGGGTACTATATTCAGTGGGTGAGGC
 AGGCCCTGAACAGGGCCTTGAATGGATGGGGTGGATCAATCCAAATTCCGGGGGAACCAA

TTATGCTCAGAAATTTTCAGGGCAGAGTGACAATGGCCAGGGACACCTCAATCAGCACAGTC
TACATGGACCTGAGCCGCCTGAGGTCTGATGACACAGCCGTCTACTACTGTGCCCCGGATCA
GAGGGGGAAACAGTGTCTTCGACTATTGGGGGCAGGGAACCCTGGTGACTGTCTCCTCCGG
GGGAGGGGGTAGCGGGGGAGGCGGCAGCGGCGGGGGTGGTTCTGACATTGTTATGACCCAA
TCCCCAGACTCTCTGGCCGTGAGCCTGGGTGAGAGAGCCACCATCAATTGCAAGTCCACCC
AGAGCATACTCTATACGTCAAACAATAAGAATTTCTGGCGTGGTATCAGCAAAAGCCGGG
TCAACCACCCAAGTTGTTGATTAGCTGGGCATCAATTCGAGAATCTGGCGTCCCTGATAGG
TTTAGCGGGAGCGGTAGTGGAACCGACTTTGCGCTGACCATTTTCATCCCTTCAGGCAGAGG
ACGTGGCTGTGTATTACTGTCAACAGTACTTCAGCACGATGTTTTCTTTTCGGCCAGGGGAC
GAAGCTGGAGATAAAGCGGGCCGCAGCACTCAGCAACAGCATCATGTACTTTTCTCATTTTC
GTCCCAGTTTTTTCTCCCCGCCAAACCCACCACTACCCCTGCTCCTAGGCCTCCCACTCCCG
CACCCACCATTGCTTCCCAACCTCTGTCATTGAGGCCCGAAGCCTGCAGACCTGCCGCAGG
AGGGGCTGTGCACACCCGCGGTCTGGATTTTGCTTGTGATATCTACATTTGGGCCCCCTTTG
GCCGGAACCTGCGGAGTGTTGTTGCTGAGCCTTGTTATCACGTTGTACTGTAATCACAGAA
ACAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCC
TGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGG
AGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAAC
TTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGG
CCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAAC
GAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGA
GACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTA
TGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 77)

AA de la construcción 4E9 CD8 (la secuencia señal está
en negritas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYIH
WVRQAPEQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMARDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYC
ARIRGGNSVFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC
KSTQSILYTSNNKNFLAWYQQKPGQPPKLLISWASIRESGVPDRFSGSGSGTDFALTISSL
QAEDVAVYYCQQYFSTMFSGGQGTKLEIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRP
PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
NHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQG
QNQLYNELNLRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK
GERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 78)

ADN de la construcción 11F11 CD28 (la secuencia señal
está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCCGCAGGTGCAGCTCCAAGAGTCAGGACCAGGACTTGTCAAACCAAGCCAGACCCTC
AGCCTTACCTGCACCGTCAGCGGGGGCTCCATCAGCTCTGGGGCTTACTACTGGACATGGA
TACGACAGCATCCCGGTAAAGGTCTGGAGTGGATCGGGTACATACACTATAGTGGTTCCAC
ATATTCTAATCCATCTCTTAAGAGTCGAATTACAATTTCACTCGATACTTCAAAGAATCAG
TTCAGCTTGAACTGAACTCCGTGACCGCGGCTGACACCGCCGTGTACTACTGTGCACGCC
AAGAGGATTATGGCGGACTGTTGATTATTGGGGGCAGGGAACCTCTCGTGACAGTGAGCTC
CGGCGGGGGCGGCAGCGGTGGGGGTGGAAGTGGTGGAGGGGGCAGCGAGATCGTGATGACC
CAGAGTCCTGCCACACTGTCAGTGAGTCCTGGGGAGCGAATCACACTTTCCTGTGAGCGT
CTCAGTCCGTGACCACGGACCTGGCGTGGTACCAGCAGATGCCAGGCCAGGCGCCAAGACT
CCTGATCTACGACGCTTCTACCCGCGCTACTGGTTTCCCCGCCAGATTCTCCGGAAGCGGG
TCCGGGACGGATTTTACACTTACCATCTCTTCATTGCAGGCTGAGGATTTTGCCGTGTACT
ACTGTCAGCATTACAAAACCTGGCCCCTCACTTTCGGGGGCGGAACAAAAGTGGAAATTAA

ACGGGCAGCAGCTATTGAGGTGATGTACCCACCCCCCTACCTGGACAACGAGAAATCCAAT
 GGCACCATCATCCACGTTAAGGGTAAGCACTTGTGTCCCTCACCCTCTTCCCTGGGCCTA
 GCAAGCCATTCTGGGTCCTGGTGGTCGTGGGAGGCGTGCTGGCCTGCTATTCCCTCCTGGT
 TACCGTTGCCTTTATCATATTTTGGGTCAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGAT
 TACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCAC
 CACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCC
 CGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGAGAGAAGAG
 TACGACGTTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGA
 AGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTC
 TGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGC
 CTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCCAGCT
 AG (SEQ ID NO: 79)

AA de la construcción 11F11 CD28 (la secuencia señal
 está en negritas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGAYY
 WTWIRQHPGKGLEWIGYIHYSGSTYSNP SLKSRITISLDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYY
 CARQEDYGGFLFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERITLS
 CRASQSVTTDLAWYQQMPGQAPRLLIYDASTRATGFPARFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDF
 AVYYCQHYKTWPLTFGGGTKVEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLE
 PGPSKPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYY
 PYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK
 PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL
 PPR (SEQ ID NO: 80)

Construcción 11F11 CD28T ADN (la secuencia señal está en

negritas)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCCGCAGGTGCAGTTGCAGGAGAGCGGGCCAGGCCTGGTGAAGCCCAGCCAAACACTG
AGCCTCACCTGTACTGTGTCCGGTGGTAGCATTTCCAGCGGGGCGTATTATTGGACATGGA
TACGCCAACACCCTGGAAAAGGGTTGGAGTGGATTGGATACATCCATTATTCTGGGTCCAC
CTATAGTAACCCTTCTCTCAAGTCTCGCATTACTATTAGTTTGGATACCTCTAAGAATCAG
TTTAGTCTGAAGCTGAACAGTGTAAACGCCGCCGACACCGCGGTCTACTACTGTGCTAGGC
AGGAGGATTACGGGGGACTGTTTCGATTACTGGGGCCAGGGGACATTGGTCACCGTTTCAAG
CGGGGGCGGCGGATCTGGCGGAGGGGGATCTGGAGGCGGAGGCTCTGAGATCGTAATGACT
CAGAGCCCAGCCACCCTGTCCGTCTCTCCCGGCGAACGCATCACTCTGAGCTGTAGGGCAT
CACAGTCTGTTACCACAGATCTGGCTTGGTATCAACAAATGCCTGGGCAGGCCCCGCGACT
GTTGATTTATGACGCCTCTACGCGGGCCACAGGATTTCTGCCCCGGTTCTCCGGGTCTGGT
TCTGGCACCGATTTTACCTTGACAATCAGTAGCTTGCAGGCAGAAGATTTGCTGTGTATT
ACTGCCAACATTATAAGACATGGCCTTTGACATTCGGCGGGGGAACCAAAGTGGAGATCAA
ACGCGCCGCAGCCCTGGACAATGAGAAGTCTAATGGGACCATCATTCACGTCAAAGGGAAA
CACCTGTGCCCCTCTCCTCTGTTCCCAGGCCCTTCTAAGCCCTTCTGGGTCTCTCGTGGTGG
TGGGCGGTGTCCTGGCCTGCTATTCCCTTCTTGTGACAGTGGCCTTTATCATTTTTTGGGT
GAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCT
GGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGA
GCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACT
TTACAATGAGCTGAACCTGGGTTCGAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGC
CGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACG
AGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAG
ACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTAT

GACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 81)

AA de la construcción 11F11 CD28T (la secuencia señal está en negritas)

MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGAYY
 WTWIRQHPGKGLEWIGYIHYSGSTYSNP SLKSRITISLDTSKNQFSLKLN SVTAADTAVYY
 CARQEDYGG LFDYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERITLS
 CRASQSVTTDLAWYQQMPGQAPRL LIYDASTRATGF PARFSGSGSGTDFTLT ISSLQAEDF
 AVYYCQHYKTWPLTFGGG TKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFVW
 LVVVGGVLACYSL LVTVAFIIFWVRSKR SRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA
 AYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG
 LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ
 ID NO: 82)

ADN de la construcción 11F11 CD8 (la secuencia señal está en negritas)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
ACGCCCGCAGGTACAGTTGCAGGAAAGCGGCCCGGCCTTGTA AAACCAAGCCAGACTCTC
 AGTTTGA CTTGCA CCGTCTCAGGAGGAAGCATTTCCAGTGGGGCTTATTATTGGACTTGGA
 TTCGGCAGCATCCTGGGAAAGGGTTGGAATGGATCGGTTATATTCATTATAGCGGTAGCAC
 CTATTCCAATCCGTCTTTGAAAAGCAGAATCACTATTTCACTCGACACCTCTAAGAACCAG
 TTCAGTCTCAA ACTGAACTCCGTGACAGCGGCCGACACAGCTGTGTACTACTGTGCACGGC
 AAGAAGATTATGGGGGGCTGTTTCGATTATTGGGGCCAAGGCACACTGGTGACAGTATCAAG
 CGGTGGAGGAGGCTCCGGGGGCGGAGGAAGTGGAGGCGGGGGGAGCGAAATTGTGATGACC
 CAGTCTCCAGCCACGCTGTCAGTGTCTCCGGGAGAACGCATAACCCTCTCCTGCCGGGCCA
 GTCAGTCCGTCACGACCGATTTGGCTTGGTATCAACAGATGCCTGGGCAGGCCCCCGCTT

GCTGATCTATGACGCCTCCACCAGAGCAACTGGTTTCCCCGCCCGGTTTCAGCGGATCTGGA
 AGCGGTACAGATTTTACACTTACCATCTCATCATTGCAAGCTGAGGATTTTGCCGTGTACT
 ACTGCCAGCACTACAAGACCTGGCCTTTGACGTTTCGGCGGCGGAACAAAAGTGGAGATTAA
 AAGAGCCGCTGCCCTCAGTAACTCAATCATGTACTTTAGTCACTTTGTGCCTGTGTTTCTG
 CCAGCAAAGCCAACAACCACACCAGCACCCCGCCCTCCAACGCCTGCCCCAACCATCGCCT
 CCCAGCCTCTGAGCTTGAGGCCTGAGGCTTGTCGCCCAGCTGCTGGAGGTGCTGTGCATAC
 ACGAGGACTGGATTTTCGCCTGCGATATCTATATCTGGGCACCACTTGCCGGTACTTGTGGT
 GTGTTGCTGCTCTCACTGGTCATCACGCTGTACTGTAACCATAGGAATAGATCCAAAAGAA
 GCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAA
 AACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTT
 TCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGA
 ACCTGGGTCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGAT
 GGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGAC
 AAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTC
 ACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACAT
 GCAGGCACTGCCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 83)

AA de la construcción 11F11 CD8 (la secuencia señal está en negritas)

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGAYY
 WTWIRQHPGKGLEWIGYIHYSGSTYSNPSLKSRTISLDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYY
 CARQEDYGGFLFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERITLS
 CRASQSVTTDLAWYQQMPGQAPRLLIYDASTRATGFPARFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDF
 AVYYCQHYKTWPLTFGGGTKVEIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAP
 TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNR

SKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY
 NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
 GKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 84)

AA del NM 004119 del FLT3 humano

MPALARDGGQLPLLVVFSAMIFGTITNQDLPLVIKCVLINHKNNDSSVGKSSSYPMV
 SESPEDLGCALRPQSSGTVYEAAAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPH
 FDLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSI RNTLLYTLRRPYFRKMEN
 QDALVCISESVPEPIVEWVLCDSQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGR
 ECTRLFTIDLNQTPQTTLPLQLFLKVGEPLWIRCKAVHVNHGFGLTWELENKALEEGNYFEM
 STYSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYITCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSEDYEI
 DQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTF SRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNHKHQPGEYIFHAEN
 DDAQFTKMFTLNIRRKPVLAEEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVW
 NRKANRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGFPFPIQDNISF
 YATIGVCLLFIVVLTLICHKYKKQFRYESQLQMVQVTGSSDNEYFYVDFREY EYDLKWEF
 PRENLEFGKVLGSGAFGKVMNATAYGISKTGVSIQVAVKMLKEKADSSEREALMSELKMMT
 QLGSHENIVNLLGACTLSGPIYLI FEYCCYGDLLNYLRSKREKFHRTWTEIFKEHNFSFYF
 TFQSHPNSSMPGSREVQIHPDSDQISGLHGNSFHSEDEIEYENQKRLEEEEDLNVLT FEDL
 LCFAYQVAKGMEFLEFKSCVHRDLAARNVLVTHGKVVKICDFGLARDIMSDSNYVVRGNAR
 LPVKWMAPESLFEGIYTIKSDVWSYGILLWEIFSLGVNPYPGIPVDANFYKLIQNGFKMDQ
 PFYATEEIIYIIMQSCWAFDSRKRPSFPNLTSFLGCQLADAE EAMYQNVDGRVSECPHTYQN
 RRPFSREMDLGLLSPQAQVEDS (SEQ ID NO: 85)

ADN del péptido señal de CAR

ATGGCACTCCCCGTA ACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGC
 ACGCCCG (SEQ ID NO: 86)

Péptido señal de CAR: MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 87)

ADN del conector de scFv G4S
GGCGGTGGAGGCTCCGGAGGGGGGGGCTCTGGCGGAGGGGGCTCC (SEQ ID NO: 88)

Conector G4s del scFv: GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 89)
ADN del conector Whitlow de scFv
GGGTCTACATCCGGCTCCGGGAAGCCCGGAAGTGGCGAAGGTAGTACAAAGGGG
(SEQ ID NO: 90)

Conector Whitlow del scFv: GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 91)

Secuencia de ácidos nucleicos de 4-1BB (dominio intracelular)
AAGCGCGGCAGGAAGAAGCTCCTCTACATTTTAAAGCAGCCTTTTATGAGGCCCGT
ACAGACAACACAGGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCAGATTTCCCGAGGAGGAGGAAGGTGGG
TGCGAGCTG (SEQ ID NO: 92)

AA de 4-1BB (dominio intracelular)
KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO: 93)

AA de OX40
RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO: 94)

INCORPORACIÓN A MODO DE REFERENCIA

Todas las publicaciones, las patentes y las solicitudes de patentes mencionadas en esta descripción se incorporan en la

presente a modo de referencia, en la misma extensión en que se incorporó cada publicación, patente o solicitud de patente individual específica e individualmente a modo de referencia. Sin embargo, la cita de una referencia en la presente no se debería interpretar como un reconocimiento que dicha referencia constituye arte anterior para la presente invención. En la medida que cualquiera de las definiciones o términos provistos en las referencias incorporadas a modo de referencia difieran de los términos y la descripción provistos en la presente, prevalecerán los términos y definiciones de la presente.

EQUIVALENTES

Se considera que la Descripción escrita precedente es suficiente para que el especialista en la técnica pueda practicar la invención. La Descripción y los Ejemplos precedentes detallan determinadas formas de realización preferidas de la invención y describen el mejor modo contemplado por los inventores. Sin embargo, se debe tener en cuenta que no importa cuán detallada pueda parecer el texto precedente, la invención puede ser practicada de muchas maneras y la invención debe ser considerada con referencia a las reivindicaciones adjuntas y cualquier equivalente de estas.

Los siguientes ejemplos, incluyendo los experimentos

realizados y los resultados obtenidos, solamente se proveen a efectos ilustrativos y no deben considerarse como limitaciones de la presente invención.

EJEMPLO 1

Las células Namalwa, MV4:11 y HL60 (ATCC) y las células EoL1 (Sigma-Aldrich) se cultivaron en medio RPMI1640 (Lonza) + 10% de FBS (Corning) + 1X de penicilina, estreptomicina L-glutamina (Corning) (R10) y se mantuvieron a una densidad de células de entre $0,5-2,0 \times 10^6$ células/ml. Para examinar la expresión sobre la superficie celular de FLT3, las células se incubaron con un anticuerpo anti-FLT3 (BD Pharmingen) o un anticuerpo IgG1 de control de isotipo (BD Pharmingen) en solución amortiguadora de tinción (BD Pharmingen) durante 30 minutos a 4 °C. Luego se lavaron las células y se volvieron a suspender en solución amortiguadora de tinción con yoduro de propidio (BD Pharmingen) antes de la adquisición de datos. La expresión de FLT3 sobre las células diana se muestra en la FIGURA 1.

EJEMPLO 2

Se linealizaron plásmidos que codifican un promotor T7, una construcción CAR y una secuencia estabilizante de beta globina mediante digestión durante la noche de 10 µg de ADN con EcoRI y BamHI (NEB). El ADN se digirió luego durante 2 horas a 50 °C con la proteinasa K (Thermo Fisher, 600 U/ml)

purificada con fenol/cloroformo y se precipitó mediante adición de acetato de sodio y dos volúmenes de etanol. Luego se secaron los sedimentos, se resuspendieron en agua libre de RNAsa/DNasa y se cuantificaron usando NanoDrop. Después se usó un μg del ADN lineal para la transcripción *in vitro* usando mMESSAGE mMACHINE T7 Ultra (Thermo Fisher) según las instrucciones del proveedor. El ARN se purificó adicionalmente usando el conjunto de elementos MEGAClear (Thermo Fisher) según las instrucciones del proveedor y se cuantificó usando NanoDrop. La integridad del ARNm se evaluó usando movilidad sobre un gel de agarosa. Las PBMC se aislaron a partir de Leukopaks de donantes sanos (Hemacare) usando centrifugación por densidad con Ficoll-Paque según las instrucciones del proveedor. Las PBMC se estimularon usando OKT3 (50 ng/ml, Miltenyi Biotec) en medio R10 + IL-2 (300 UI/ml, Proleukin®, Prometheus® Therapeutics and Diagnostics). Siete días después de la estimulación, las células T se lavaron dos veces en medio Opti-MEM (Thermo Fisher Scientific) y se volvieron a suspender a una concentración final de $2,5 \times 10^7$ células/ml en medio Opti-MEM. Se usaron 10 μg de ARNm por electroporación. La electroporación de las células se efectuó usando un sistema Gemini X2 (Harvard Apparatus BTX) para suministrar un solo pulso de 400 V durante 0,5 ms en cubetas de 2 mm (Harvard Apparatus BTX).

Las células fueron transferidas inmediatamente a medio R10 + IL-2 y se dejó que se recuperaran durante 6 horas. Para examinar la expresión de CAR, se tiñeron células T con FLT-3-HIS (Sino Biological Inc.) o la Proteína L biotinilada (Thermo Scientific) en solución amortiguadora de tinción (BD Pharmingen) durante 30 minutos a 4 °C. Luego las células se lavaron y se tiñeron con anti-HIS-PE (Miltenyi Biotec) o PE estreptavidina (BD Pharmingen) en solución amortiguadora de tinción durante 30 minutos a 4 °C. Luego se lavaron las células y se volvieron a suspender en solución amortiguadora de tinción con yoduro de propidio (BD Pharmingen) antes de la adquisición de datos. La expresión de los CAR FLT3 en las células T sometidas a electroporación se muestra en la FIGURA 2.

EJEMPLO 3

Para examinar la actividad citolítica en células T FLT3 CAR sometidas a electroporación, las células efectoras se cultivaron con las células diana a una proporción de 1:1 de E:T en medio R10. A las 16 horas después del cocultivo, se analizaron los sobrenadantes mediante Luminex (EMD Millipore) y se evaluó la viabilidad de las células diana mediante análisis por citometría de flujo la captación de yoduro de propidio (PI) por las células CD3-negativas. La actividad citolítica de las células T CAR sometidas a electroporación

se muestra en la FIGURA 3 y la producción de citoquinas se muestra en las FIGURAS 4A-4B.

EJEMPLO 4

Se usó un vector de transferencia lentiviral de tercera generación que contiene las diferentes construcciones CAR junto con la mezcla de empaquetamiento lentiviral ViraPower (Life Technologies) para generar los sobrenadantes lentivirales. Brevemente, se generó una mezcla de transfección mediante mezclado de 15 µg de ADN y 22,5 µl de polietilenimina (Polysciences, 1 mg/ml) en 600 µl de medio OptiMEM. La mezcla se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente. Simultáneamente, se tripsinizaron células T 293 (ATCC), se contaron y se plaqueó un total de 10×10^6 células en total en un frasco T75 junto con la mezcla de transfección. Tres días después de la transfección, se recolectaron los sobrenadantes y se filtraron a través de un filtro de 0,45 µm y se guardaron a -80 °C hasta el momento del uso. Las PBMC se aislaron a partir de Leukopaks de donantes sanos (Hemacare) usando centrifugación por densidad con Ficoll-Paque según las instrucciones del proveedor. Las PBMC se estimularon usando OKT3 (50 ng/ml, Miltenyi Biotec) en medio R10 + IL-2 (300 UI/ml, Proleukin®, Prometheus® Therapeutics and Diagnostics). A las 48 horas después de la estimulación, las células se transdujeron usando lentivirus a

un MOI = 10. Las células se mantuvieron a $0,5-2,0 \times 10^6$ células/ml antes de su uso en los ensayos de actividad. Para examinar la expresión de CAR, se tiñeron células T con FLT-3-HIS (Sino Biological Inc.) o la Proteína L biotinilada (Thermo Scientific) en solución amortiguadora de tinción (BD Pharmingen) durante 30 minutos a 4 °C. Luego las células se lavaron y se tiñeron con anti-HIS-PE (Miltenyi Biotec) o PE estreptavidina (BD Pharmingen) en solución amortiguadora de tinción durante 30 minutos a 4 °C. Después se lavaron las células y se volvieron a suspender en solución amortiguadora de tinción con yoduro de propidio (BD Pharmingen) antes de la adquisición de datos. La expresión de los CAR FLT3 en células T de dos donantes sanos se muestra en la FIGURA 5.

EJEMPLO 5

Para examinar la actividad citolítica en células T FLT3 CAR transducidas con lentivirus, las células efectoras se cultivaron con las células diana a una proporción de 1:1 de E:T en medio R10. A las 16 horas después del cocultivo, se analizaron los sobrenadantes mediante Luminex (EMD Millipore) y se evaluó la viabilidad de las células diana mediante análisis por citometría de flujo la captación de yoduro de propidio (PI) por las células CD3-negativas. La actividad citolítica promedio de células T CAR transducidas con lentivirus de dos donantes sanos se muestra en la FIGURA 6 y

la producción de citoquinas por las células T CAR de cada donante sano se muestra en las FIGURAS 7A-7C.

EJEMPLO 6

Para evaluar la proliferación de las células T CAR como respuesta a células diana que expresan FLT3, se marcaron células T con CFSE antes de cocultivarlas con las células diana a una proporción 1:1 de E:T en el medio R10. Cinco días después, se evaluó la proliferación de células T mediante un análisis por citometría de flujo de la dilución CFSE. La proliferación de las células T CAR FLT3 se muestra en la FIGURA 8.

EJEMPLO 7

Para examinar la actividad anti leucémica *in vivo*, se generaron células T CAR FLT3 de utilidad en un modelo xenogénico de AML humana. La expresión de CAR de las diversas líneas efectoras usadas en el modelo xenogénico de AML humana se muestran en la FIGURA 9. Se inyectaron células MV4;11 marcadas con luciferasa (2×10^6 /animal) por vía intravenosa en ratones NSG hembra de 5 a 6 semanas de vida. Después de 6 días, se inyectaron 6×10^6 células T (~50% de CAR+) en 200 μ l de PBS por vía intravenosa y se midió la carga tumoral de los animales semanalmente usando obtención de imágenes por bioluminiscencia. Según se muestra en la FIGURA 10, la inyección de células T CAR que expresan 10E3-CD28T y 8B5-

CD28T redujo significativamente la carga tumoral en todos los puntos de tiempo examinados. Según se muestra en la FIGURA 11, esto también se confirmó con un análisis de supervivencia, donde la inyección de las células T CAR que expresan 10E3-CD28T o 8B5-CD28T confería una ventaja de supervivencia significativa con respecto a los animales que recibieron las células transducidas ficticiamente o células T CAR que expresan las construcciones 10E3-CD28 o 10E3-CD8. No se observaron diferencias significativas entre las construcciones 10E3-CD28T y 8B5-CD28T en términos de eficacia.

P-2021/26473

Listado de secuencias modificado para respuesta a Oficio No. 2878

19 de julio de 2022

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Amgen Inc.

BAKKER, Alice

<120> RECEPTORES QUIMÉRICOS DE FLT3 Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

<130> A-2065-WO-PCT

<140> PCT/US17/25613

<141> 2017-03-31

<150> US 62/317,219

<151> 2016-04-01

<160> 99

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 294

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

cttgataatg aaaagtcaaa cggaacaatc attcacgtga agggcaagca cctctgtccg 60

tcacccttgt tccttggtcc atccaagcca ttctgggtgt tggctgtagt gggaggagtc 120

ctcgcttggt actctctgct cgtcaccgtg gcttttataa tcttctgggt tagatccaaa 180

agaagccgcc tgctccatag cgattacatg aatatgactc cacgccgccc tggccccaca 240

aggaaacact accagcctta cgcaccacct agagatttcg ctgcctatcg gagc 294

<210> 2

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys

1 5 10 15

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp

20 25 30

Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val

35 40 45

Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu

50 55 60

Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

65 70 75 80

Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

85 90 95

Arg Ser

<210> 3

<211> 90

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

cttgataatg aaaagtcaaa cggaacaatc attcacgtga agggcaagca cctctgtccg 60

tcacccttgt tccctgggtcc atccaagcca 90

<210> 4

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys

1 5 10 15

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

20 25 30

<210> 5

<211> 81

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

ttctgggtgt tggtcgtagt gggtaggagtc ctcgcttggt actctctgct cgtcaccgtg 60

gcttttataa tcttctgggt t 81

<210> 6

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20 25

<210> 7

<211> 123

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

agatccaaaa gaagccgcct gctccatagc gattacatga atatgactcc acgccgcct 60

ggccccacaa ggaaacacta ccagccttac gcaccaccta gagatttcgc tgcctatcgg 120

agc 123

<210> 8

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 9

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

agggtgaagt tttccagatc tgcagatgca ccagcgtatc agcagggcca gaaccaactg 60

tataacgagc tcaacctggg acgcagggaa gagtatgacg ttttgacaa gcgcagagga 120

cgggaccctg agatgggtgg caaaccaaga cgaaaaaacc cccaggaggg tctctataat 180

gagctgcaga aggataagat ggctgaagcc tattctgaaa taggcatgaa aggagagcgg 240

agaaggggaa aagggcacga cggttgtac cagggactca gcactgctac gaaggatact 300

tatgacgctc tccacatgca agccctgccca cctagg 336

<210> 10

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 11

<211> 117

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

attgaggtga tgtatccacc gccttacctg gataacgaaa agagtaacgg taccatcatt 60

cacgtgaaag gtaaacacct gtgtccttct cccctcttcc ccgggccatc aaagccc 117

<210> 12

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
1 5 10 15

Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro
35

<210> 13

<211> 288

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

gctgcagcat tgagcaactc aataatgtat ttagtcact ttgtaccagt gttcttgccg 60

gctaagccta ctaccacacc cgctccacgg ccacctaccc cagctcctac catcgcttca 120

cagcctctgt ccctgcgccc agaggcttgc cgaccggccg cagggggcgc tggcatacc 180

agaggactgg atttcgcctg cgatatctat atctgggcac ccctggccgg aacctgcggc 240

gtactcctgc tgtccctggt catcacgctc tattgtaatc acaggaac 288

<210> 14

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Ala Ala Ala Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro

1 5 10 15

Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro

20 25 30

Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu

35 40 45

Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp

50 55 60

65 70 75 80

85 90 95

<213> Homo sapiens

cagggtcacct tgaaggagtc tggctctgtg ctggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60

acctgcaccg tctctgggtt ctcactcatc aatgctagaa tgggtgtgag ctggatccgt 120

cagccccag ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt tttcgaatgc cgaaaaatcg 180

tacaggacat ctctgaagag caggctcacc atctccaagg acacctccaa aagccaggtg 240

gtccttacca tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgcacggata 300

ccaggctacg gtggaacgg ggactaccac tactacggtg tggacgtctg gggccaaggg 360

accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 16

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ile Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys Ser Tyr Arg Thr Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly Asp Tyr His Tyr Tyr

100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Asn Ala Arg Met Gly Val Ser

1 5

<210> 18

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly Asp Tyr His Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 20

$\langle 211 \rangle$ 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 20

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctctaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgct gatctatgct tcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caactatta ctgtctacag cataataatt tcccgtaggac gttcggtcag 300

ggaacgaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 21

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1

5

10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser

1

5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Leu Gln His Asn Asn Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 25

<211> 375

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 25

caggtcacct tgaaggagtc tggctctgtg ctggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60

acctgcaccg tctctgggtt ctactcagg aatgctagaa tgggtgtaag ctggatccgt 120

cagcctcccg ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt ttcgaatga cgaaaaaacc 180

tacagcatat ctctgaagag caggctcacc atctccaggg acacctcaa aggccaggtg 240

gtccttacca tgaccaagat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgcacggata 300

ccctactatg gttcggggag tcataactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 26

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Arg Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Thr Tyr Ser Thr Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Gly Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Lys Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Ile Pro Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser His Asn Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Ile Pro Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser His Asn Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 28
<211> 324
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 28

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttcg gctggtatca acagaaacca 120

gggaaagccc ctcagcgctt gctctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag tataatactt acccgtggac gttcggtcag 300

ggaacgaagg tggaaatcaa acga

324

<210> 29

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Phe Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Arg Leu Leu

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Thr Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp Phe Gly
1 5 10

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Leu Gln Tyr Asn Thr Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 33

<211> 360

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 33

cagatacaac tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgtag cgtctggatt caccttcaag aactatggca tgcaactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atttggatg atggaagtaa tgaatactat 180

ggagaccccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca actccaagaa catgttgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgatgac acggctgtgt attactgtgc gaggtcggga 300

atagcagtgg ctggggcctt tgactactgg ggccaggga ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 34

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Asn Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Gly Asp Pro Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Met Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Gly Asp Pro Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 37

<211> 327

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 37

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtctttgt ctccagggga aaaagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcttct tggcctggta ccagcagaaa 120

cctggacagg ctcccagtct cctcatctat gttgcatcca gaagggccgc tggcatccct 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttggaatgtt ttactgtcaa cactatggta ggacaccatt cactttcggc 300

cctgggacca aagtggatat caaacga 327

<210> 38

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Val Ala Ser Arg Arg Ala Ala

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 41

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Val Ala Ser Arg Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Gly Met Phe Tyr Cys Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100 105

<210> 42

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Asp Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Gly Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 46

<211> 342

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 46

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccacca gagtatttta tacacctcca acaataagaa cttcttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagcctcct aaactgctca tttcctgggc atctatccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cgctctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcaacaata ttttagtact 300

atgttcagtt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaac ga 342

<210> 47

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Ser Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Phe Ser Thr Met Phe Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys Arg

<210> 48

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr Ser Asn Asn Lys Asn Phe Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser

1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Met Phe Ser

1 5

<210> 51

<211> 360

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 51

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtgggtgcat actactggac ttggatccgc 120

cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatcc attacagtgg gagcacctac 180

tccaaccgt ccctcaagag tcgaattacc atatcgtag acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaagc tgaactctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagacaa 300

gaggactacg gtggtttgtt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtttcctca 360

<210> 52

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Ala Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Ser Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Ser Gly Ala Tyr Tyr Trp Thr

1 5

<210> 54

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 56

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 56

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagaatcacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtggtacc accgacttag cctgggtacca gcagatgcct 120

ggacaggctc cccggctcct catctatgat gcttcacca gggccactgg tttccagcc 180

agattcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcacgtca ccatcagcag cctgcaggct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat tataaaacct ggcctctcac ttctggcgga 300

gggactaagg tggagatcaa acga 324

<210> 57

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ile Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Met Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 61

<211> 1482

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 61

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtga ccctcaaaga gtctggaccc gtgctcgtaa aacctacgga gaccctgaca 120

ctcacctgca cagtctccgg cttcagcctc atcaatgcca ggatgggagt ttcctggatc 180

aggcaaccgc ccggaaggc cctggaatgg ctcgcacata ttttcagtaa cgctgaaaaa 240

agctatcgga cttctctgaa aagtcggctc acgattagta aggacacatc caagagccaa 300

gtggtgctta cgatgactaa catggaccct gtggatactg caacctatta ctgtgctcga 360

atccctgggt atggcgaaa tggggactac cactactacg gtatggatgt ctggggccaa 420

gggaccacgg ttactgttc aagcggaggg ggaggaggagtg ggggtggcgg atctggcgga 480

ggaggcagcg atatccagat gacgcagtcc ctagttcac tttccgcatc cctgggggat 540

cgggttacca ttacatgccg cgcgtcacag ggtatccgga atgatctggg atggtaccag 600

cagaagccgg gaaaggctcc taagcgcctc atctacgcca gctccaccct gcagagtgga 660

gtgcctccc ggttttcagg cagtggctcc ggtacggagt ttactcttac aattagcagc 720

ctgcagccag aagattttgc aacttactac tgtttcagc ataataattt cccctggacc 780

ttggtcagg gcaccaaggt ggagatcaaa agagcagccg ccatcgaagt aatgtatccc 840

ccccgtacc ttgacaatga gaagtcaa at ggaaccatta tccatgttaa gggcaaacac 900

ctctgccctt ctccactgtt cctggccct agtaagccgt ttgggtgct ggtggtagtc 960

ggtaggggtgc tggcttgta ctctcttc gtgaccgtcg ctttataat ctttgggtc 1020

agatcaaaa gaagccgcct gctccatagc gattacatga atatgactcc acgccgcct 1080

ggccccacaa ggaaacacta ccagccttac gcaccaccta gagatttcgc tgcctatcgg 1140

agccgagtga aattttctag atcagctgat gctccgcct atcagcagg acagaatcaa 1200

ctttacaatg agctgaacct gggtcgaga gaagagtacg acgttttga caaacgccgg 1260

ggccgagatc ctgagatggg ggggaagccg agaaggaaga atcctcaaga aggcctgtac 1320

aacgagcttc aaaaagacaa aatggctgag gcgtactctg agatcgcat gaaggcgag 1380

cggagacgag gcaaggtca cgatggctg tatcagggcc tgagtacagc cacaaggac 1440

acctatgacg cctccacat gcaggcactg cccccacgt ag 1482

<210> 62

<211> 493

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ile Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys

65 70 75 80

Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly

115 120 125

Asp Tyr His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

130 135 140

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala

165 170 175

Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile

180 185 190

Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

195 200 205

Arg Leu Ile Tyr Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg

210 215 220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

225 230 235 240

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn

245 250 255

Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala

260 265 270

Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys

275 280 285

Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser

290 295 300

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val

305 310 315 320

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile

325 330 335

Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr

340 345 350

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln

355

360

365

Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys

370

375

380

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln

385

390

395

400

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

405

410

415

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

420

425

430

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

435

440

445

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly

450

455

460

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

465

470

475

480

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

490

<210> 63

<211> 1455

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 63

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaagtta ctttgaagga gtctggacct gtactggtga agccaaccga gacactgaca 120

ctcacgtgta cagtgagtgg ttttccttg atcaacgcaa ggatgggcgt cagctggatc 180

aggcaacccc ctggcaaggc tctggaatgg ctgcctcaca tattcagcaa tgccgaaaaa 240

agctaccgga caagcctgaa atcccgctg actatttcca aggacacttc taagtctcag 300

gtggtgctga ccatgaccaa catggacccg gtggacaccg ccacctatta ctgcgcaaga 360

atccctgggt atggtgggaa tggtgactac cattattatg ggatggatgt gtgggggcaa 420

ggcacaaccg taacggtctc aagcgtggg ggaggctcag ggggcggagg ctccggaggt 480

ggcggctccg acattcagat gacccaaagc ccgtccagcc tgtccgccag cctgggagat 540

agagtgacaa tcacgtgtag agcttcccaa gggataagaa atgatctcgg gtggtatcag 600

cagaagcccg gcaaagcccc caaaaggctt atatatgcta gtagtacact gcagtctgga 660

gttccttccc gattttcagg tagcggctcc ggtacagagt tcaccctcac gataagctca 720

ctccagcctg aggatttcgc aacgtactac tgcctccagc acaacaattt tccctggact 780

ttcggccagg gcaccaaggt ggagatcaag agggccgctg cccttgataa tgaaaagtca 840

aacggaacaa tcattcacgt gaagggaag cacctctgtc cgtcacctt gttccctggt 900

ccatccaagc cattctgggt gttggtcgta gtgggtggag tcctcgcttg ttactctctg 960

ctcgtcacgg tggcttttat aatcttctgg gttagatcca aaagaagccg cctgctccat 1020

agcgattaca tgaatatgac tccacgccgc cctggcccca caaggaaaca ctaccagcct 1080

tagcaccac ctagagattt cgctgcctat cggagccgag tgaaatttc tagatcagct 1140

gatgctcccg cctatcagca gggacagaat caactttaca atgagctgaa cctgggtcgc 1200

agagaagagt acgacgtttt ggacaaacgc cggggccgag atcctgagat gggggggaag 1260

ccgagaagga agaatcctca agaaggcctg tacaacgagc ttcaaaaaga caaatggct 1320

gaggcgtagt ctgagatcgg catgaagggc gagcggagac gaggcaaggg tcacgatggc 1380

ttgtatcagg gcctgagtac agccacaaag gacacctatg acgccctcca catgcaggca 1440

ctgccccac gctag 1455

<210> 64

<211> 484

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ile Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys

65 70 75 80

Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100

105

110

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly

115

120

125

Asp Tyr His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

130

135

140

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145

150

155

160

Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala

165

170

175

Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile

180

185

190

Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

195

200

205

Arg Leu Ile Tyr Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg

210

215

220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

225 230 235 240

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn

245 250 255

Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala

260 265 270

Ala Ala Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys

275 280 285

Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

290 295 300

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

305 310 315 320

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser

325 330 335

Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly

340 345 350

Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala

355 360 365

Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala

370 375 380

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg

385 390 395 400

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

405 410 415

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn

420 425 430

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

435 440 445

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

450 455 460

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

465 470 475 480

Leu Pro Pro Arg

<210> 65

<211> 1563

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 65

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtga cactcaagga atcagggccc gtactggtga aacctactga gaccctgaca 120

ctgacttgca ccgtgtctgg gttctctctg attaacgctc gaatgggtgt gagttggata 180

cgccagcctc caggggaaggc tctggagtgg ttggcccaca ttttctcaa cgccgagaag 240

agctacagga ctagtctgaa gtccagactt accatttcca aagacacaag taaatcacag 300

gtggtgctga caatgacaaa catggacccg gttgatactg ctacctatta ttgtccccgc 360

attccccggt acggcggcaa tggcgactat cactattatg gtatggatgt ctgggggcag 420

gggaccactg ttaccgtgtc cagcgggggt ggtggcagcg gaggtggagg gagcgggtgt 480

ggggggagtg atattcagat gaccagagc cctagctctc tttccgcttc tctgggcgat 540

agagtcacca tcacctgccg ggcctctcaa ggcacccgga acgatcttgg atggtatcag 600

cagaagcccc gcaaggcacc aaaaaggctg atctacgcat caagcacctt gcaatctggg 660

gtgccgtccc ggttttctgg ttctgtagt gggaccgagt ttactctgac tatttcttcc 720

ctgcagcctg aggactttgc tacgtactat tgtctgcagc ataacaactt cccctggacg 780

ttcgggcagg gtacgaaagt ggaaattaag cgcgccgccg ccctgtcaa ctccattatg 840

tatttctctc attttgtccc agtgttctg cccgctaaac ccacaactac tccggcgccc 900

cgaccgcaa ctccgcacc taccatcgca agccagccat tgagcctccg acctgaggca 960

tgtagaccag cagccggcgg tgccgtgcac acaaggggac tggatttcgc ctgcgacata 1020

tatattggg cccctctggc tggaacctgt ggggttctgc tgctctctct cgttattaca 1080

ctgtattgca atcatcgcaa tagatccaaa agaagccgcc tgctccatag cgattacatg 1140

aatatgactc cagccgccc tggccccaca aggaaacact accagcctta cgcaccacct 1200

agagatttcg ctgcctatcg gagccgagt aaattttcta gatcagctga tgctcccgcc 1260

tatcagcagg gacagaatca actttacaat gagctgaacc tgggtcgcag agaagagtac 1320

gacgttttgg acaaacgccg gggccgagat cctgagatgg gggggaagcc gagaaggaag 1380

aatcctcaag aaggcctgta caacgagctt caaaaagaca aaatggctga ggcgtactct 1440

gagatcgga tgaagggcga gcggagacga ggcaagggtc acgatggctt gtatcagggc 1500

ctgagtacag ccacaaagga cacctatgac gccctccaca tgcaggcact gcccccacgc 1560

tag 1563

<210> 66

<211> 520

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ile Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys

65 70 75 80

Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr

85

90

95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100

105

110

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly

115

120

125

Asp Tyr His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

130

135

140

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145

150

155

160

Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala

165

170

175

Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile

180

185

190

Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

195 200 205

Arg Leu Ile Tyr Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg

210 215 220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

225 230 235 240

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn

245 250 255

Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala

260 265 270

Ala Ala Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val

275 280 285

Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr

290 295 300

Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala

305 310 315 320

Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe

325

330

335

Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val

340

345

350

Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg

355

360

365

Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

370

375

380

Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro

385

390

395

400

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala

405

410

415

Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu

420

425

430

Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly

435

440

445

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
450 455 460

Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
465 470 475 480

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
485 490 495

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
500 505 510

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
515 520

- <210> 67
- <211> 1464
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

<400> 67
atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcagatcc agttggtgga atcagggggc ggtgtggtgc agccgggtag gagcctgaga 120

ctgtcatgcg tggcgtctgg cttcacattc aagaactacg gcatgcactg ggtgcgacag 180

gccccggaa agggtttga gtgggtcgcc gtgatctggt acgacggatc taatgagtat 240

tacggagatc ctgtgaaggg aaggttcacc atctcccgcg acaatagcaa aaatatgctc 300

tacctgaaa tgaactcact cagggcggat gatacggcgg tctactattg cgctcgctca 360

gggattgctg tggccggcgc attcgattac tggggacagg gtaccctggt gacagtatca 420

agcggaggcg gcggctctgg cggcggcgga tctggcgggg ggggaagtga gattgtgttg 480

acacagtctc ccgataccct gtcactgtca cccggcgaga aggcaacgct gagttgcaga 540

gcaagccagt cagtctctc ttcttttctg gcctggtatc agcaaaaacc aggtcaggca 600

ccatctctcc tgatttacgt tgccagcaga cgggcggctg gcattccga caggttctct 660

ggaagcggat ctgggaccga ttttaccctg acaattagcc gcttgagacc cgaagacttt 720

ggtatgtttt actgccagca ctacggaagg acacctttca catttgccc gggcacgaaa 780

gtcgatataa aacgcgcagc cgccattgaa gtaatgtacc caccacctta ttggacaat 840

gaaaagtcca atggtacat tattcacgtc aagggaagc atctctgtcc aagccctctg 900

ttccccggcc cctcaaacc attctgggtg ctggtggtcg tcggcggagt tctggcctgc 960

tattctctgc tcgtgactgt tgcatcattc attttctggg tgagatcaa aagaagccgc 1020

ctgctccata gcgattacat gaatatgact ccacgccgcc ctggcccccac aaggaaacac 1080

taccagcctt acgaccacc tagagatttc gctgcctatc ggagccgagt gaaattttct 1140

agatcagctg atgtcccg cctatcagcag ggacagaatc aactttacaa tgagctgaac 1200

ctgggtcgca gagaagagta cgacgttttg gacaaacgcc ggggccgaga tcctgagatg 1260

ggggggaagc cgagaaggaa gaatcctcaa gaaggcctgt acaacgagct taaaaaagac 1320

aaaatggctg aggcgtactc tgagatcggc atgaaggcg agcggagacg aggcaagggt 1380

cacgatggct tgtatcaggg cctgagtaca gccacaaagg acacctatga cgccctccac 1440

atgcaggcac tgccccacg ctag 1464

<210> 68

<211> 487

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val

20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe

35

40

45

Thr Phe Lys Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50

55

60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr

65

70

75

80

Tyr Gly Asp Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser

85

90

95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr

100

105

110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe

115

120

125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130

135

140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu

145

150

155

160

Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Lys Ala Thr

165

170

175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp

180

185

190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu Ile Tyr Val Ala

195

200

205

Ser Arg Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

210

215

220

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe

225

230

235

240

Gly Met Phe Tyr Cys Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro Phe Thr Phe Gly

245

250

255

Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Ala Ala Ala Ile Glu Val Met

260

265

270

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile

275

280

285

His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro

290 295 300

Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

305 310 315 320

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

325 330 335

Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

340 345 350

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

355 360 365

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp

370 375 380

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn

385 390 395 400

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg

405 410 415

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly

420 425 430

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu

435 440 445

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu

450 455 460

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His

465 470 475 480

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

<210> 69

<211> 1437

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 69

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcagattc agctcgtgga gtcaggtggg ggcgtgggtc agcccggacg gtcctgcga 120

ctctcttggtg tggcaagcgg atttaccttt aagaactatg gcatgcactg ggtgaggcag 180

gcccctggaa aaggactgga gtgggttgct gtgatctggt acgacgggtc caacgaatat 240

tatggcgatc ctgtgaaggg acggtttaca atctcacgcg ataactcaaa gaacatgctg 300

tacctgcaaa tgaactctct gcgcgtgat gacactgccg tgtattattg cgctcgagat 360

ggtatcgccc tcgcaggagc atttgattat tgggggcaag ggaccctcgt gacagtgagt 420

tccggagggg gaggttctgg tggaggcggc tctggtgggg gaggcagcga gatcgttctg 480

accagtctc ctgacacact gtcactgtcc cctggtgaaa aggccacact gtctttaga 540

gcgtcccaga gcgtttccag ttccttcctt gcatggatc aacaaaaacc cgggcaggct 600

ccaagcttgc tgatctacgt ggccagccgc cgggccgcag gcatccctga taggtttagc 660

ggttctggga gcgggacgga cttcaccttg acaatatcac ggctggaacc cgaagacttc 720

ggaatgtttt attgccagca ctacggaaga actccattca ctttggccc gggaacgaag 780

gtagacatca agagagcagc agccctcgac aacgagaaat ccaatggaac cattatccat 840

gtgaagggga aacatctctg cccttcacca ttgttcctg gaccagcaa gccttttgg 900

gttctggtcg tgggtggggg cgtcctggct tgttactccc tcctcgttac agtcgccttc 960

ataatctttt gggttagatc caaaagaagc cgctgctcc atagcgatta catgaatatg 1020

actccacgcc gccctggccc cacaagaaa cactaccagc cttacgcacc acctagagat 1080

ttcgctgcct atcgagaccg agtgaaattt tctagatcag ctgatgctcc cgcctatcag 1140

caggacaga atcaacttta caatgagctg aacctgggtc gcagagaaga gtacgacgtt 1200

ttggacaaac gccggggccg agatcctgag atggggggga agccgagaag gaagaatcct 1260

caagaaggcc tgtacaacga gcttcaaaaa gacaaaatgg ctgaggcgta ctctgagatc 1320

ggcatgaagg gcgagcggag acgaggcaag ggtcacgatg gcttgtatca gggcctgagt 1380

acagccacaa aggacaccta tgacgccctc cacatgcagg cactgcccc acgctag 1437

<210> 70

<211> 478

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val

20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe

35

40

45

Thr Phe Lys Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50

55

60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr

65

70

75

80

Tyr Gly Asp Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser

85

90

95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr

100

105

110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe

115

120

125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130

135

140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu

145

150

155

160

Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Lys Ala Thr

165

170

175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp

180

185

190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu Ile Tyr Val Ala

195

200

205

Ser Arg Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

210

215

220

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe

225

230

235

240

Gly Met Phe Tyr Cys Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro Phe Thr Phe Gly

245

250

255

Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Ala Ala Ala Leu Asp Asn Glu

260

265

270

Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro

275

280

285

Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val

290 295 300

Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe

305 310 315 320

Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp

325 330 335

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr

340 345 350

Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val

355 360 365

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn

370 375 380

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val

385 390 395 400

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg

405 410 415

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys

420 425 430

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg

435 440 445

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys

450 455 460

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

465 470 475

<210> 71

<211> 1545

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 71

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcagatac agcttgtcga atccggtggc ggggtggtgc agcctggacg cagcctgcgg 120

ctttcttgcg tggccagcgg atttaccttc aagaactacg ggatgcattg ggtccgccag 180

gcacccggca aaggccttga gtgggttgca gtgatctggt acgacggcag taacgagtat 240

tatggcgacc ccgtgaaggg aaggtttact attcaagag ataatagtaa gaacatgttg 300

tatctgcaaa tgaacagtct gagagcggac gacactgccg tgtactactg tgctcgctcc 360

ggcatcgctg tggcaggggc cttgactac tggggtcagg ggacgctggt cacggttagt 420

tccgggggcg gtggttccgg aggaggcggg tccggcggcg gcggatcaga aatcgttctt 480

actcagagtc ccgatacgct gtccttgtct ccgggagaaa aagccacact gagctgccga 540

gcctcacagt cagtaagttc ttcattcctc gcctggtacc agcaaaaacc ggggcaggcc 600

ccttcctgc ttatctacgt ggctctagg agagccgccg gtattcctga ccggttcagc 660

ggaagtgggt ccgggactga tttacgctc acgatctccc gattggagcc cgaggatttc 720

gggatgttct actgtcagca ttatggaaga acgcccttta cttcgggtcc gggaactaag 780

gttgatatta agcgggctgc tgcccttagc aactccatca tgtatttttc tacttcgtg 840

ccagtattcc tgccagcaa accgaccaca accccagcac ctagacctcc tactcccgt 900

cccacatag cttcacagcc gctgagtttg aggccagagg cctgtcggcc tgctgcaggc 960

ggagcagttc acaccagggg acttgacttt gcatgtgaca tctatatttg ggctccactg 1020

gcgggaacct gcggggtgct cctttgtca ctggttatca cactgtattg caatcatagg 1080

aatagatcca aaagaagccg cctgctccat agcgattaca tgaatatgac tccacgccgc 1140

cctggcccca caaggaaaca ctaccagcct tacgcaccac ctagagattt cgctgcctat 1200

cggagccgag tgaaattttc tagatcagct gatgctcccg cctatcagca gggacagaat 1260

caactttaca atgagctgaa cctgggtcgc agagaagagt acgacgtttt ggacaaacgc 1320

cggggccgag atcctgagat gggggggaag ccgagaagga agaatcctca agaaggcctg 1380

tacaacgagc ttcaaaaaga caaatggct gaggcgtact ctgagatcgg catgaagggc 1440

gagcggagac gaggcaaggg tcacgatggc ttgtatcagg gcctgagtac agccacaaag 1500

gacacctatg acgccctcca catgcaggca ctgccccac gctag 1545

<210> 72

<211> 514

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val

20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe

35

40

45

Thr Phe Lys Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50

55

60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr

65

70

75

80

Tyr Gly Asp Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser

85

90

95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr

100

105

110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe

115

120

125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130

135

140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu

145

150

155

160

Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Lys Ala Thr

165

170

175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp

180

185

190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu Ile Tyr Val Ala

195

200

205

Ser Arg Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

210

215

220

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe

225

230

235

240

Gly Met Phe Tyr Cys Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro Phe Thr Phe Gly

245

250

255

Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Ala Ala Ala Leu Ser Asn Ser

260

265

270

Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro

275

280

285

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

290 295 300

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly

305 310 315 320

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile

325 330 335

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val

340 345 350

Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu

355 360 365

Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

370 375 380

Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

385 390 395 400

Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln

405

410

415

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu

420

425

430

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly

435

440

445

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu

450

455

460

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly

465

470

475

480

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser

485

490

495

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro

500

505

510

Pro Arg

<210> 73

<211> 1476

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 73

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtgc agctggtgca gagggtgggca gaagtaaaga agcctggtgc ctctgtcaaa 120

gttagttgca aagcatctgg gtatactttc accggttact atatccattg gggtcggcag 180

gccccggagc agggactgga gtggatgggc tggatcaacc caaattcagg cggcactaac 240

tatgctcaaa agttccaggg cagggtcaca atggcccggg atacttcaat tagcaccgtc 300

tatatggatc ttagtcggct gcgcagtgc gataccgctg tctactattg cgcaaggatc 360

aggggcggca attctgtttt tgactattgg ggccagggaa cactggtgac cgtctcctct 420

ggtaggagcg gtagtggtgg aggcgggtcc ggaggagggg gctccgatat agtgatgact 480

caaagtcccg atagcttggc agtatctctt gggaacgcg ccactattaa ctgtaaatcc 540

accagtcca ttctctatac ctctaacaac aagaatttcc tcgcgtggta tcagcaaaaa 600

cccgggcagc cacctaaact gcttatatcc tgggccagca tcaggagatc cggcgtcctt 660

gatcggttca gcggtagtgg cagcgggaca gacttcgctc tgaccatcag tagcctccag 720

gctgaagatg tcgcagtgta ttattgccag cagtacttca gcacgatgtt tagcttcggg 780

cagggaacca agctggaaat aaagagagct gcagcaatcg aggtgatgta cccacctcca 840

tatctggaca atgaaaagtc caatggcact atcatacacg tgaagggcaa acacctgtgt 900

ccatctccac tttcccggg cccgtctaaa ctttctggg tgctgggtgt ggtgggcgga 960

gttctggcct gttattcact gctggtcacc gtggctttca tcatttttg ggtaagatcc 1020

aaaagaagcc gcctgctcca tagcgattac atgaatatga ctccacgccg ccctggcccc 1080

acaaggaaac actaccagcc ttacgcacca cctagagatt tcgctgccta tcggagccga 1140

gtgaaatfff ctatgcagc tgatgctccc gcctatcagc agggacagaa tcaactttac 1200

aatgagctga acctgggtcg cagagaagag tacgacgttt tggacaaacg ccggggccga 1260

gatcctgaga tgggggggaa gccgagaagg aagaatcctc aagaaggcct gtacaacgag 1320

cttcaaaaag acaaaatggc tgaggcgtac tctgagatcg gcatgaaggg cgagcggaga 1380

cgaggcaagg gtcacgatgg cttgtatcag ggctgagta cagccacaaa ggacacctat 1440

gacgccctcc acatgcaggc actgccccca cgctag 1476

<210> 74

<211> 491

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Arg Asp Thr Ser

85 90 95

Ile Ser Thr Val Tyr Met Asp Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp

115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr

145 150 155 160

Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile

165 170 175

Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr Ser Asn Asn Lys Asn

180 185 190

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu

195 200 205

Ile Ser Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

225 230 235 240

Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Met

245

250

255

Phe Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala

260

265

270

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn

275

280

285

Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu

290

295

300

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly

305

310

315

320

Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe

325

330

335

Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn

340

345

350

Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr

355

360

365

Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser

370 375 380

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr

385 390 395 400

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys

405 410 415

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn

420 425 430

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu

435 440 445

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly

450 455 460

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr

465 470 475 480

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485 490

<210> 75

<211> 1449

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 75

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtac agctggtgca gagcggggcc gaggtcaaaa agcccggggc ttcagttaag 120

gttagctgca aggcttccgg ctacaccttt accggttact atattcactg ggtagacag 180

gcacctgagc aaggactgga gtggatgggg tggattaacc ccaatagcgg tgggaccaac 240

tacgcccaga agtttcaagg ccgagtgaca atggcacgag acacctccat ttccactgtg 300

tacatggact tgagccgcct caggtcagac gacaccgcag tgtactactg tgcgcgaatc 360

cgcggcggaa acagcgtgtt tgactactgg ggtcagggca cgttggtgac cgtgtcttcc 420

ggaggggggg gatctggttg cgggggctcc ggcggaggcg gtagtgatat tgtgatgact 480

cagtcaccgg acagtcttgc tgtttcactt ggtgagaggg ccaccataaa ttgtaaaagc 540

accagagca ttctctacac atctaacaac aaaaatttcc tggcctggta ccagcagaag 600

cccggacagc cacccaaatt gctgattagc tgggccagca ttcgagaatc tggggttccg 660

gaccgctttt ccgggtctgg ctctgggacc gacttcgctt tgaccataag ctctcttcag 720

gccgaagacg tcgcagtata ctattgtcaa cagtattttt ctaccatgtt ttccttcggc 780

caggggaacta agttggagat caagagagca gctgcattgg ataatgagaa gtccaatggc 840

actattatcc acgtgaaagg taaacacctg tgtccctcac ccctgtttcc aggacctagt 900

aaaccattct gggctcttgg ttagtcggg ggcgttttgg catgttattc ccttcttg 960

acagtcgcct ttatcatttt ctgggtgaga tccaaaagaa gccgcctgct ccatagcgat 1020

tacatgaata tgactccacg ccgccctggc cccacaagga aacactacca gccttacgca 1080

ccacntagag atttcgctgc ctatcggagc cgagtgaaat ttctagatc agctgatgct 1140

ccgcctatc agcagggaca gaatcaactt tacaatgagc tgaacctggg tcgcagagaa 1200

gagtagcagc ttttgacaa acgccggggc cgagatcctg agatgggggg gaagccgaga 1260

aggaagaatc ctcaagaagg cctgtacaac gagcttcaa aagacaaaat ggctgaggcg 1320

tactctgaga tcggcatgaa gggcgagcgg agacgaggca agggtcacga tggcttgat 1380

cagggcctga gtacagccac aaaggacacc tatgacgccc tccacatgca ggcactgccc 1440

ccacgctag 1449

<210> 76

<211> 482

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Arg Asp Thr Ser

85 90 95

Ile Ser Thr Val Tyr Met Asp Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp

115

120

125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130

135

140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr

145

150

155

160

Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile

165

170

175

Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr Ser Asn Asn Lys Asn

180

185

190

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu

195

200

205

Ile Ser Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

210

215

220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

225

230

235

240

Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Met

245

250

255

Phe Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala

260

265

270

Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys

275

280

285

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp

290

295

300

Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val

305

310

315

320

Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu

325

330

335

Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

340

345

350

Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

355 360 365

Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln

370 375 380

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu

385 390 395 400

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly

405 410 415

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu

420 425 430

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly

435 440 445

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser

450 455 460

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro

465 470 475 480

Pro Arg

<210> 77

<211> 1557

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 77

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaagttc agcttggtgca gagcggagct gaggtgaaaa aaccaggcgc ctccgttaag 120

gtgtcttgca aagccagcgg atacacattt accgggtact atattcactg ggtgaggcag 180

gccctgaac agggccttga atggatgggg tggatcaatc caaattccgg gggaaccaat 240

tatgctcaga aatttcaggg cagagtgaca atggccaggg acacctcaat cagcacagtc 300

tacatggacc tgagccgcct gaggtctgat gacacagccg tctactactg tgcccggatc 360

agaggggggaa acagtgtctt cgactattgg gggcaggggaa ccctggtgac tgtctcctcc 420

gggggagggg gtagcggggg aggcggcagc ggcgggggtg gttctgacat tggtatgacc 480

caatccccag actctctggc cgtgagcctg ggtgagagag ccaccatcaa ttgcaagtcc 540

accagagca tactctatac gtcaacaat aagaatttcc tggcgtggta tcagcaaaag 600

ccgggtcaac cacccaagtt gttgattagc tgggcatcaa ttcgagaatc tggcgtccct 660

gataggttta gcgggagcgg tagtggaacc gactttgcgc tgaccatttc atcccttcag 720

gcagaggacg tggctgtgta ttactgtcaa cagtacttca gcacgatgtt ttctttcggc 780

caggggacga agctggagat aaagcgggcc gcagcactca gcaacagcat catgtacttt 840

tctcatttcg tcccagtttt tctccccgcc aaaccaccca ctaccctgc tcctaggcct 900

cccactcccg caccaccat tgcttccaa cctctgtcat tgaggccga agcctgcaga 960

cctgccgcag gaggggctgt gcacaccgc ggtctggatt ttgcttga tatctacatt 1020

tggggccctt tggccggaac ctgcggagtg ttgttgctga gccttggtat cacgtgtac 1080

tgtaatcaca gaaacagatc caaaagaagc gcctgtctcc atagcgatta catgaatatg 1140

actccacgcc gccctggccc cacaagaaa cactaccagc cttacgcacc acctagagat 1200

ttcgtgcct atcggagccg agtgaaattt tctagatcag ctgatgctcc cgcctatcag 1260

caggacaga atcaacttta caatgagctg aacctgggtc gcagagaaga gtacgacgtt 1320

ttggacaaac gccggggccg agatcctgag atggggggga agccgagaag gaagaatcct 1380

caagaaggcc tgtacaacga gcttcaaaaa gacaaaatgg ctgaggcgta ctctgagatc 1440

ggcatgaagg gcgagcggag acgaggcaag ggtcacgatg gcttgatca ggcctgagt 1500

acagccacaa aggacaccta tgacgccctc cacatgcagg cactgcccc acgctag 1557

<210> 78

<211> 518

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Arg Asp Thr Ser

85 90 95

Ile Ser Thr Val Tyr Met Asp Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr

100

105

110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp

115

120

125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130

135

140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr

145

150

155

160

Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile

165

170

175

Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr Ser Asn Asn Lys Asn

180

185

190

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu

195

200

205

Ile Ser Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

210

215

220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

225 230 235 240

Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Met

245 250 255

Phe Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala

260 265 270

Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu

275 280 285

Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala

290 295 300

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg

305 310 315 320

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys

325 330 335

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu

340 345 350

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Ser Lys

355 360 365

Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

370 375 380

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

385 390 395 400

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

405 410 415

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

420 425 430

Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

435 440 445

Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu

450 455 460

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
465 470 475 480

Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
 485 490 495

Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
 500 505 510

Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 515

<210> 79
<211> 1461
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 79
atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtgc agctccaaga gtcaggacca ggacttgtca aaccaagcca gaccctcagc 120

cttacctgca ccgtcagcgg gggctccatc agctctgggg cttactactg gacatggata 180

cgacagcatc ccggtaaagg tctggagtgg atcgggtaca tacactatag tggttccaca 240

tattctaadc catctcttaa gattcgaatt acaatttcac tcgatacttc aaagaatcag 300

ttcagcttga aactgaactc cgtgaccgcg gctgacaccg ccgtgtacta ctgtgcacgc 360

caagaggatt atggcggact gttcgattat tgggggcagg gaactctcgt gacagtgagc 420

tccggcgggg gcggcagcgg tgggggtgga agtgggtggag ggggcagcga gatcgtgatg 480

accagagtc ctgccacact gtcagtgagt cctggggagc gaatcacact ttctgtcga 540

gcgtctcagt ccgtgaccac ggacctggcg tggtagcagc agatgccagg ccaggcgcca 600

agactcctga tctacgacgc ttctaccgc gctactggtt tccccgccag attctccga 660

agcgggtccg ggacggattt tacacttacc atctcttcat tgcaggctga ggattttgcc 720

gtgtactact gtcagcatta caaacctgg ccctcactt tcgggggcgg aacaaaagtg 780

gaaattaaac gggcagcagc tattgaggtg atgtaccac cccctacct ggacaacgag 840

aatccaatg gcaccatcat ccacgttaag ggtaagcact tgtgtccctc accactcttc 900

cctgggccta gcaagccatt ctgggtcctg gtggtcgtgg gaggcgtgct ggctgtctat 960

tcctcctgg ttaccgttgc ctttatcata tttgggtca gatccaaaag aagccgcctg 1020

ctccatagcg attacatgaa tatgactcca cgccgccctg gcccacaag gaaacactac 1080

cagccttacg caccacntag agatttcgt gcctatcgga gccgagtga attttctaga 1140

tcagctgatg ctccgccta tcagcagga cagaatcaac ttacaatga gctgaacctg 1200

ggtcgcagag aagagtacga cgttttggac aaacgccggg gccgagatcc tgagatgggg 1260

gggaagccga gaaggaagaa tcctcaagaa ggcctgtaca acgagcttca aaaagacaaa 1320

atggctgagg cgtactctga gatcggcatg aagggcgagc ggagacgagg caagggtcac 1380

gatggcttgt atcagggcct gagtacagcc acaaaggaca cctatgacgc cctccacatg 1440

caggcactgc cccacgcta g 1461

<210> 80

<211> 486

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly

35 40 45

Ser Ile Ser Ser Gly Ala Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Leu Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe

115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met

145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Ile Thr

165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp Leu Ala Trp Tyr

180

185

190

Gln Gln Met Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

195

200

205

Thr Arg Ala Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210

215

220

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala

225

230

235

240

Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly

245

250

255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr

260

265

270

Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His

275

280

285

Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser

290

295

300

Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr

305 310 315 320

Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

325 330 335

Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

340 345 350

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

355 360 365

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

370 375 380

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

385 390 395 400

Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

405 410 415

Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu

420 425 430

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile

435

440

445

Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr

450

455

460

Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met

465

470

475

480

Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

<210> 81

<211> 1434

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 81

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtgc agttgcagga gagcgggccca ggcctggtga agcccagcca aacactgagc 120

ctcacctgta ctgtgtccgg tggtagcatt tccagcgggg cgtattattg gacatggata 180

cgccaacacc ctggaaaagg gttggagtgg attggataca tccattattc tgggtccacc 240

tatagtaacc cttcttcaa gtctcgatt actattagtt tggatactc taagaatcag 300

tttagtctga agctgaacag tgtaaccgcc gccgacaccg cggctacta ctgtgctagg 360

caggaggatt acgggggact gttcgattac tggggccagg ggacattggt caccgtttca 420

agcgggggcg gcggatctgg cggaggggga tctggaggcg gaggctctga gatcgtaatg 480

actcagagcc cagccaccct gtccgtctct cccggcgaac gcatcactct gagctgtagg 540

gcatcacagt ctgttaccac agatctggct tggatatcaac aaatgcctgg gcaggccccg 600

cgactgttga ttatgacgc ctctacgagg gccacaggat ttctgcccc gttctccggg 660

tctggttctg gcaccgattt taccttgaca atcagtagct tgcaggcaga agatttcgct 720

gtgtattact gccaacatta taagacatgg ctttgacat tcggcggggg aaccaaagtg 780

gagatcaaac gcgccgagc cctggacaat gagaagtcta atgggacat cattcacgtc 840

aaagggaac acctgtgccc ctctcctctg ttcccaggcc cttctaagcc cttctgggtt 900

ctcgtggtgg tgggcggtgt cctggcctgc tattcccttc ttgtgacagt ggcctttatc 960

atTTTTTggg tgagatcaa aagaagccgc ctgctcata gcgattacat gaatatgact 1020

ccacgccgc ctggccccac aaggaaacac taccagcctt acgcaccacc tagagatttc 1080

gctgcctatc ggagccgagt gaaattttct agatcagctg atgctccgc ctatcagcag 1140

ggacagaatc aactttacaa tgagctgaac ctgggtcgca gagaagagta cgacgttttg 1200

gacaaacgcc ggggccgaga tcctgagatg ggggggaagc cgagaaggaa gaatcctcaa 1260

gaaggcctgt acaacgagct tcaaaaagac aaaatggctg aggcgtactc tgagatcggc 1320

atgaaggcg agcggagacg aggcaagggt cacgatggct tgtatcaggc cctgagtaca 1380

gccacaaagg acacctatga cgccctccac atgcaggcac tgcccccacg ctag 1434

<210> 82

<211> 477

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly

35 40 45

Ser Ile Ser Ser Gly Ala Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Leu Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe

115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met

145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Ile Thr

165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp Leu Ala Trp Tyr

180

185

190

Gln Gln Met Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

195

200

205

Thr Arg Ala Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210

215

220

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala

225

230

235

240

Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly

245

250

255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Leu Asp Asn Glu Lys

260

265

270

Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser

275

280

285

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val

290

295

300

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile

305 310 315 320

Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr

325 330 335

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln

340 345 350

Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys

355 360 365

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln

370 375 380

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

385 390 395 400

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

405 410 415

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

420 425 430

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly

435 440 445

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

450 455 460

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

465 470 475

<210> 83

<211> 1542

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 83

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtag agttgcagga aagcggcccc ggccttgtaa aaccaagcca gactctcagt 120

ttgacttgca ccgtctcagg aggaagcatt tccagtgggg cttattattg gacttggatt 180

cggcagcatc ctgggaaagg gttggaatgg atcgggtata ttcattatag cggtagcacc 240

tattccaatc cgtctttgaa aagcagaatc actatttcac tcgacacctc taagaaccag 300

ttcagtctca aactgaactc cgtgacagcg gccgacacag ctgtgtacta ctgtgcacgg 360

caagaagatt atggggggct gttcgattat tggggccaag gcacactggt gacagtatca 420

agcgggtggag gaggctccgg gggcggagga agtggaggcg gggggagcga aattgtgatg 480

accagtctc cagccacgct gtcagtgtct ccgggagaac gcataaccct ctctgccgg 540

gccagtcagt ccgtcacgac cgatttggt tggatatcaac agatgcctgg gcaggcccc 600

cgcttgctga tctatgacgc ctccaccaga gcaactggtt tccccgccg gttcagcgga 660

tctggaagcg gtacagattt tacacttacc atctcatcat tgcaagctga ggattttgcc 720

gtgtactact gccagcacta caagacctgg cctttgacgt tcggcggcgg aacaaaagtg 780

gagattaaag gagccgctgc cctcagtaac tcaatcatgt actttagtca ctttgcct 840

gtgtttctgc cagcaaagcc acaaccaca ccagcacccc gccctccaac gcctgcccc 900

accatgcct cccagcctt gagcttgagg cctgaggctt gtcgccagc tgctggaggt 960

gctgtgcata cagaggact ggatttcgcc tgcgatatct atatctgggc accacttgcc 1020

ggtacttggt gtgtgttgct gctctcactg gtcacacgc tgtactgtaa ccataggaat 1080

agatccaaaa gaagccgcct gctccatagc gattacatga atatgactcc acgccgcct 1140

ggccccacaa ggaaacacta ccagccttac gcaccaccta gagatttcgc tgcctatcgg 1200

agccgagtga aattttctag atcagctgat gctccgcct atcagcagg acagaatcaa 1260

ctttacaatg agctgaacct gggtcgcaga gaagagtacg acgttttggg caaacgccgg 1320

ggccgagatc ctgagatggg ggggaagccg agaaggaaga atcctcaaga aggcctgtac 1380

aacgagcttc aaaaagacaa aatggctgag gcgtactctg agatcggcat gaagggcgag 1440

cggagacgag gcaaggggtca cgatggcttg taccagggcc tgagtacagc cacaagggac 1500

acctatgacg ccctccacat gcaggcactg cccccacgct ag 1542

<210> 84

<211> 513

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly

35 40 45

Ser Ile Ser Ser Gly Ala Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Leu Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe

115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met

145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Ile Thr

165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp Leu Ala Trp Tyr

180

185

190

Gln Gln Met Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

195

200

205

Thr Arg Ala Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210

215

220

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala

225

230

235

240

Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly

245

250

255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Leu Ser Asn Ser Ile

260

265

270

Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr

275

280

285

Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser

290

295

300

Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly

305 310 315 320

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp

325 330 335

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile

340 345 350

Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu

355 360 365

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg

370 375 380

Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg

385 390 395 400

Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln

405 410 415

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu

420 425 430

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly

435

440

445

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln

450

455

460

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu

465

470

475

480

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr

485

490

495

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

500

505

510

Arg

<210> 85

<211> 993

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Met Pro Ala Leu Ala Arg Asp Gly Gly Gln Leu Pro Leu Leu Val Val

1 5 10 15

Phe Ser Ala Met Ile Phe Gly Thr Ile Thr Asn Gln Asp Leu Pro Val

20 25 30

Ile Lys Cys Val Leu Ile Asn His Lys Asn Asn Asp Ser Ser Val Gly

35 40 45

Lys Ser Ser Ser Tyr Pro Met Val Ser Glu Ser Pro Glu Asp Leu Gly

50 55 60

Cys Ala Leu Arg Pro Gln Ser Ser Gly Thr Val Tyr Glu Ala Ala Ala

65 70 75 80

Val Glu Val Asp Val Ser Ala Ser Ile Thr Leu Gln Val Leu Val Asp

85 90 95

Ala Pro Gly Asn Ile Ser Cys Leu Trp Val Phe Lys His Ser Ser Leu

100 105 110

Asn Cys Gln Pro His Phe Asp Leu Gln Asn Arg Gly Val Val Ser Met

115

120

125

Val Ile Leu Lys Met Thr Glu Thr Gln Ala Gly Glu Tyr Leu Leu Phe

130

135

140

Ile Gln Ser Glu Ala Thr Asn Tyr Thr Ile Leu Phe Thr Val Ser Ile

145

150

155

160

Arg Asn Thr Leu Leu Tyr Thr Leu Arg Arg Pro Tyr Phe Arg Lys Met

165

170

175

Glu Asn Gln Asp Ala Leu Val Cys Ile Ser Glu Ser Val Pro Glu Pro

180

185

190

Ile Val Glu Trp Val Leu Cys Asp Ser Gln Gly Glu Ser Cys Lys Glu

195

200

205

Glu Ser Pro Ala Val Val Lys Lys Glu Glu Lys Val Leu His Glu Leu

210

215

220

Phe Gly Thr Asp Ile Arg Cys Cys Ala Arg Asn Glu Leu Gly Arg Glu

225

230

235

240

Cys Thr Arg Leu Phe Thr Ile Asp Leu Asn Gln Thr Pro Gln Thr Thr

245

250

255

Leu Pro Gln Leu Phe Leu Lys Val Gly Glu Pro Leu Trp Ile Arg Cys

260

265

270

Lys Ala Val His Val Asn His Gly Phe Gly Leu Thr Trp Glu Leu Glu

275

280

285

Asn Lys Ala Leu Glu Glu Gly Asn Tyr Phe Glu Met Ser Thr Tyr Ser

290

295

300

Thr Asn Arg Thr Met Ile Arg Ile Leu Phe Ala Phe Val Ser Ser Val

305

310

315

320

Ala Arg Asn Asp Thr Gly Tyr Tyr Thr Cys Ser Ser Ser Lys His Pro

325

330

335

Ser Gln Ser Ala Leu Val Thr Ile Val Glu Lys Gly Phe Ile Asn Ala

340

345

350

Thr Asn Ser Ser Glu Asp Tyr Glu Ile Asp Gln Tyr Glu Glu Phe Cys

355

360

365

Phe Ser Val Arg Phe Lys Ala Tyr Pro Gln Ile Arg Cys Thr Trp Thr

370 375 380

Phe Ser Arg Lys Ser Phe Pro Cys Glu Gln Lys Gly Leu Asp Asn Gly

385 390 395 400

Tyr Ser Ile Ser Lys Phe Cys Asn His Lys His Gln Pro Gly Glu Tyr

405 410 415

Ile Phe His Ala Glu Asn Asp Asp Ala Gln Phe Thr Lys Met Phe Thr

420 425 430

Leu Asn Ile Arg Arg Lys Pro Gln Val Leu Ala Glu Ala Ser Ala Ser

435 440 445

Gln Ala Ser Cys Phe Ser Asp Gly Tyr Pro Leu Pro Ser Trp Thr Trp

450 455 460

Lys Lys Cys Ser Asp Lys Ser Pro Asn Cys Thr Glu Glu Ile Thr Glu

465 470 475 480

Gly Val Trp Asn Arg Lys Ala Asn Arg Lys Val Phe Gly Gln Trp Val

485 490 495

Ser Ser Ser Thr Leu Asn Met Ser Glu Ala Ile Lys Gly Phe Leu Val

500

505

510

Lys Cys Cys Ala Tyr Asn Ser Leu Gly Thr Ser Cys Glu Thr Ile Leu

515

520

525

Leu Asn Ser Pro Gly Pro Phe Pro Phe Ile Gln Asp Asn Ile Ser Phe

530

535

540

Tyr Ala Thr Ile Gly Val Cys Leu Leu Phe Ile Val Val Leu Thr Leu

545

550

555

560

Leu Ile Cys His Lys Tyr Lys Lys Gln Phe Arg Tyr Glu Ser Gln Leu

565

570

575

Gln Met Val Gln Val Thr Gly Ser Ser Asp Asn Glu Tyr Phe Tyr Val

580

585

590

Asp Phe Arg Glu Tyr Glu Tyr Asp Leu Lys Trp Glu Phe Pro Arg Glu

595

600

605

Asn Leu Glu Phe Gly Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Lys Val

610 615 620

Met Asn Ala Thr Ala Tyr Gly Ile Ser Lys Thr Gly Val Ser Ile Gln

625 630 635 640

Val Ala Val Lys Met Leu Lys Glu Lys Ala Asp Ser Ser Glu Arg Glu

645 650 655

Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Met Met Thr Gln Leu Gly Ser His Glu

660 665 670

Asn Ile Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Leu Ser Gly Pro Ile Tyr

675 680 685

Leu Ile Phe Glu Tyr Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu Asn Tyr Leu Arg

690 695 700

Ser Lys Arg Glu Lys Phe His Arg Thr Trp Thr Glu Ile Phe Lys Glu

705 710 715 720

His Asn Phe Ser Phe Tyr Pro Thr Phe Gln Ser His Pro Asn Ser Ser

725 730 735

Met Pro Gly Ser Arg Glu Val Gln Ile His Pro Asp Ser Asp Gln Ile

740

745

750

Ser Gly Leu His Gly Asn Ser Phe His Ser Glu Asp Glu Ile Glu Tyr

755

760

765

Glu Asn Gln Lys Arg Leu Glu Glu Glu Glu Asp Leu Asn Val Leu Thr

770

775

780

Phe Glu Asp Leu Leu Cys Phe Ala Tyr Gln Val Ala Lys Gly Met Glu

785

790

795

800

Phe Leu Glu Phe Lys Ser Cys Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn

805

810

815

Val Leu Val Thr His Gly Lys Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu

820

825

830

Ala Arg Asp Ile Met Ser Asp Ser Asn Tyr Val Val Arg Gly Asn Ala

835

840

845

Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Leu Phe Glu Gly Ile

850

855

860

Tyr Thr Ile Lys Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Leu Leu Trp Glu

865 870 875 880

Ile Phe Ser Leu Gly Val Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Asp Ala

885 890 895

Asn Phe Tyr Lys Leu Ile Gln Asn Gly Phe Lys Met Asp Gln Pro Phe

900 905 910

Tyr Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Ile Ile Met Gln Ser Cys Trp Ala Phe

915 920 925

Asp Ser Arg Lys Arg Pro Ser Phe Pro Asn Leu Thr Ser Phe Leu Gly

930 935 940

Cys Gln Leu Ala Asp Ala Glu Glu Ala Met Tyr Gln Asn Val Asp Gly

945 950 955 960

Arg Val Ser Glu Cys Pro His Thr Tyr Gln Asn Arg Arg Pro Phe Ser

965 970 975

Arg Glu Met Asp Leu Gly Leu Leu Ser Pro Gln Ala Gln Val Glu Asp

980 985 990

Ser

<210> 86

<211> 63

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 86

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccg 63

<210> 87

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro

<210> 88

<211> 45

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 88

ggcgggtggag gctccggagg ggggggctct ggcggagggg gctcc 45

<210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 90

<211> 54

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 90

gggtctacat ccggctccgg gaagcccgga agtggcgaag gtagtacaaa gggg 54

<210> 91

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 92

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Ala Ala Gly Cys Gly Cys Gly Gly Cys Ala Gly Gly Ala Ala Gly Ala

1 5 10 15

Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Cys Thr Ala Cys Ala Thr Thr Thr Thr

20 25 30

Thr Ala Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Thr Thr Thr Ala Thr Gly

35 40 45

Ala Gly Gly Cys Cys Cys Gly Thr Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Ala
50 55 60

Cys Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Gly
65 70 75 80

Cys Thr Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr
85 90 95

Cys Cys Cys Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly
100 105 110

Gly Thr Gly Gly Gly Thr Gly Cys Gly Ala Gly Cys Thr Gly
115 120 125

<210> 93
<211> 42
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 93

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

20

25

30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35

40

<210> 94

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly

1

5

10

15

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser

20

25

30

Thr Leu Ala Lys Ile

35

<210> 95

<211> 6762

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid Vector

<400> 95

ctgacgcgcc ctgtacggc gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga 60

ccgtacact tgccagcgcc ctacgccccg ctcttttcgc tttcttcct tcctttctcg 120

ccacgttcgc cggctttccc cgtcaagctc taaatcgggg gctccctta gggttccgat 180

ttagtgcttt acggcacctc gacccaaaa aacttgatta gggatggtg tcacgtagtg 240

ggccatcgcc ctgatagacg gtttttcgcc ctttgacgtt ggagtccacg ttctttaata 300

gtggactctt gttccaaact ggaacaacac tcaaccctat ctcggtctat tcttttgatt 360

tataagggat ttgccgatt tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat 420

ttaacgcgaa ttttaacaaa atattaacgc ttacaatttg ccattcgcca ttcaggctgc 480

gcaactgttg ggaagggcga tcggtgcggg cctcttcgct attacgccag ctggcgaaag 540

ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gttttccag tcacgacgtt 600

gtaaaacgac ggccagtga ttgtaatacg actcactata gggcgaccg gggatggcgc 660

gccagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc cgcgttacat 720

aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga ccccgccca ttgacgtcaa 780

taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg 840

agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc 900

cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc ccgcctggca ttatgccag tacatgacct 960

tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt accatgctga 1020

tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg gatagcggtt tgactcacgg ggatttcaa 1080

gtctccaccc cattgacgtc aatgggagtt tgttttgca ccaaatcaa cgggactttc 1140

caaatgtcg taacaactcc gcccattga cgcaaatggg cggtaggcgt gtacggtggg 1200

aggcttatat aagcagagct ggttagtga accgggtct ctctggttag accagatctg 1260

agcctgggag ctctctggct aactaggga cccactgctt aagcctcaat aaagcttgcc 1320

ttgagtgtt caagtagtgt gtgccgtct gttgtgtgac tctggtaact agagatccct 1380

cagacccttt tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtggc gccgaacag ggacttgaaa 1440

gcgaaaggga aaccagagga gctctctga cgcaggactc ggcttgctga agcgcgcacg 1500

gcaagaggcg aggggcgagc actggtgagt acgcaaaaaa tttgactag cggaggctag 1560

aaggagagag atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg ggagaattag atcgcatgg 1620

gaaaaaatc ggtaaggcc aggggggaaag aaaaaatata aattaaaca tatagtatgg 1680

gcaagcaggg agctagaacg attcgagtt aatcctggcc tgtagaaac atcagaaggc 1740

tgtagacaaa tactgggaca gctacaacca tcccttcaga caggatcaga agaacttaga 1800

tcattatata atacagtagc aaccctctat tgtgtgcatc aaaggataga gataaaagac 1860

accaaggaag ctttagacaa gatagaggaa gagcaaaaca aaagtaagac caccgcacag 1920

caagccgccg ctgatcttca gacctggagg aggagatatg agggacaatt ggagaagtga 1980

attatataaa tataaagtag taaaaattga accattagga gtagcaccca ccaaggcaaa 2040

gagaagagtg gtgcagagag aaaaaagagc agtgggaata ggagctttgt tccttgggtt 2100

ctggggagca gcaggaagca ctatggggcg agcgtcaatg acgctgacgg tacaggccag 2160

acaattattg tctggtatag tgcagcagca gaacaatttg ctgagggcta ttgaggcgca 2220

acagcatctg ttgcaactca cagtctgggg catcaagcag ctccaggcaa gaatcctggc 2280

tgtggaaaga tacctaaagg atcaacagct cctggggatt tggggttgct ctggaaaact 2340

catttcacc actgctgtgc cttggaatgc tagttggagt aataaatctc tggaacagat 2400

ttggaatcac acgacctgga tggagtggga cagagaaatt aacaattaca caagcttaat 2460

acactcctta attgaagaat cgcaaaacca gcaagaaaag aatgaacaag aattattgga 2520

attagataaa tgggcaagtt tgtggaattg gttaacata acaaattggc tgtggtatat 2580

aaaattattc ataatgatag taggaggctt ggtaggttta agaatagttt ttgctgtact 2640

ttctatagtg aatagagtta ggcagggata ttcaccatta tcgtttcaga cccacctccc 2700

aaccccgagg ggacccgaca gggccgaagg aatagaagaa gaaggtggag agagagacag 2760

agacagatcc attcgattag tgaacggatc tcgacggtat cggttaactt ttaaaagaaa 2820

aggggggatt ggggggtaca gtgcagggga aagaatagta gacataatag caacagacat 2880

acaaactaaa gaattacaaa aacaaattac aaaattcaaa atttatcgc gatcgcgga 2940

tgaaagacc cacctgtagg ttggcaagc tagcttaagt aacgccattt tgcaaggcat 3000

ggaaaataca taactgagaa tagagaagtt cagatcaagg ttaggaacag agagacagca 3060

gaatatgggc caaacaggat atctgtgta agcagttcct gcccggctc agggccaaga 3120

acagatggtc cccagatgcg gtccgcctt cagcagtttc tagagaacca tcagatgttt 3180

ccagggtgcc ccaaggacct gaaaatgacc ctgtgcctta ttgaaactaa ccaatcagtt 3240

cgcttctgc ttctgttcgc gcgcttctgc tccccgagct caataaaaga gccacaacc 3300

cctcactcgg cgcgccagtc cttcgaagta gatctttgtc gatcctacca tccactcgac 3360

acaccgccca gcggccgctg ccaagcttcc gagctctcga attaattcac ggtaccacc 3420

atggcctagg gagactagtc gaatcgatat caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga 3480

ttgactggta ttcttaacta tgttgctcct ttacgctat gtggatacgc tgctttaatg 3540

cctttgtatc atgctattgc ttcccgatg gctttcattt tctcctcctt gtataaatcc 3600

tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg cccgttgta ggcaacgtgg cgtggtgtgc 3660

actgtgttg ctgacgcaac cccactggt tggggcattg ccaccacctg tcagctcctt 3720

tccgggactt tcgctttccc cctccctatt gccacggcgg aactcatgc cgctgcctt 3780

gcccgtgct ggacaggggc tcggctgttg ggcactgaca attccgtggt gttgtcgggg 3840

aagctgacgt ccttttcatg gctgctcgcc tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg 3900

tccttctgct acgtcccttc ggccctcaat ccacgggacc ttccttccg cggcctgctg 3960

ccggctctgc ggctcttcc gcgtcttcgc ctcgccctc agacgagtc gatctccctt 4020

tgggccgcct ccccgctgg ttaattaaag taccttaag accaatgact tacaaggcag 4080

ctgtagatct tagccacttt taaaagaaa aggggggact ggaagggcga attcactccc 4140

aacgaagaca agatctgctt ttgcttgta ctgggtctct ctggtagac cagatctgag 4200

cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt 4260

gagtgcttca agtagtgtgt gcccgctctgt tgtgtgactc tggtaactag agatccctca 4320

gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcaggcatgc cagacatgat aagatacatt 4380

gatgagtttg gacaaaccac aactagaatg cagtgaaaaa aatgctttat ttgtgaaatt 4440

tgtgatgcta ttgctttatt tgtaaccatt ataagctgca ataaacaagt taacaacaac 4500

aattgcattc attttatgtt tcaggttcag ggggaggtgt gggaggtttt ttggcgcgcc 4560

atcgtcgagg ttccctttag tgagggttaa ttgcgagctt ggcgtaatca tggcatagc 4620

tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga gccggaagca 4680

taaagtgtaa agcctggggt gcctaagag tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct 4740

cactgcccgc ttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcgccaac 4800

gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttcgc ttcctcgctc actgactgc 4860

tgcgctcggc cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggc 4920

tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg 4980

ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg 5040

agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat 5100

accaggcgtt tcccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttcgacc ctgccgtta 5160

ccgatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgt 5220

gtaggtatct cagttcgggt taggtcgctt gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc 5280

ccgttcagcc cgaccgtgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aaccggtaa 5340

gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg 5400

taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact agaagaacag 5460

tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt 5520

gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtgggttttt tgtttgcaag cagcagatta 5580

cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc 5640

agtggaacga aaactcacgt taagggatct ttggtcatgag attatcaaaa aggatcttca 5700

cctagatcct tttaaattaa aatgaagtt ttaaataaat ctaaagtata tatgagtaaa 5760

cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat 5820

ttcgttcac catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata cgggagggct 5880

taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc acgctcaccg gctccagatt 5940

tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag aagtggctct gcaactttat 6000

ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta 6060

atagtttgcg caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg 6120

gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga tccccatgt 6180

tgtgcaaaaa agcgggttagc tccttcggtc ctccgatcgt tgcagaagt aagttggccg 6240

cagtggtatc actcatgggt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc atgcatccg 6300

taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc 6360

ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtaa tacgggataa taccgcgcca catagcagaa 6420

ctttaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt ctcggggcg aaaacttca aggatcttac 6480

cgctgttgag atccagttcg atgtaacca ctcgtgcacc caactgatct tcagcatctt 6540

ttactttcac cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag gcaaatgcc gcaaaaaagg 6600

gaataagggc gacacggaaa tgtgaatac tcatactctt ccttttcaa tattattgaa 6660

gcatttatca gggttattgt ctcagagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata 6720

aacaaatagg ggttccgcgc acatttccc gaaaagtgcc ac 6762

<210> 96

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Ile Pro Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser His Asn Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 97

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Asn Tyr Gly Met His

1 5

<210> 98

<211> 357

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 98

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tacactgggt gcgacaggcc 120

cctgaacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaactat 180

gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg gccagggaca cgtccatcag cacagtttac 240

atggacctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaatacgc 300

ggtggttaact cggctcttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 99

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Thr Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2022/0001426
Recibo: 22-63821
Fecha: 20/07/2022

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Pago PSE No: 699710
CUS: 1562180676

Patente PCT
RECEPTORES QUIMÉRICOS DE FLT3 Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 176,000	\$ 176,000
TOTAL					\$ 176,000