

RECEPTORES QUIMÉRICOS DIRIGIDOS A ADGRE2 Y/O CLEC12A Y USOS DE ESTOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica prioridad con respecto a la solicitud de patente provisional de EE. UU. con número de serie 63/179 799, presentada el 26 de abril de 2021, y la solicitud de patente provisional de EE. UU. con número de serie 63/287 655, presentada el 9 de diciembre de 2021, cuyo contenido se incorpora mediante esta referencia en su totalidad, y con respecto a cada uno de los cuales se reivindica prioridad.

LISTADO DE SECUENCIAS

La presente solicitud contiene un listado de secuencias que se presentó por vía electrónica en formato ASCII y se incorpora en su totalidad mediante esta referencia. Dicha copia ASCII, creada el 21 de abril de 2022, se denomina 087108_0110_SL.txt y tiene un tamaño de 150 762 bytes.

1. INTRODUCCIÓN

El objeto de la presente descripción proporciona métodos y composiciones para inmunoterapias. Se relaciona con receptores quiméricos que se dirigen a ADGRE2 y receptores quiméricos que se dirigen a CLEC12A, células que comprenden dichos receptores quiméricos y métodos para usar dichas células para tratamientos, por ejemplo, para tratar la leucemia mieloide aguda (AML).

2. ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La inmunoterapia basada en células es una terapia con potencial curativo para el tratamiento del cáncer. Los linfocitos T y otras células inmunitarias se pueden modificar para dirigirse a antígenos tumorales mediante la introducción de material genético que codifica receptores artificiales o sintéticos para antígenos, denominados receptores quiméricos para antígenos (CAR), específicos para antígenos seleccionados. La terapia de linfocitos T dirigida con CAR ha mostrado un éxito clínico reciente en el tratamiento de neoplasias malignas hematológicas.

La leucemia mieloide aguda recidivante y refractaria (R/R AML) tiene un pronóstico muy precario. La única opción curativa es el trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas, que a menudo se asocia con el fracaso del tratamiento y una toxicidad y mortalidad significativas relacionadas con la terapia. Por lo tanto, se necesitan urgentemente nuevos enfoques terapéuticos para la R/R AML. En los últimos años, los linfocitos T autólogos modificados genéticamente para expresar un receptor quimérico para antígeno (CAR) dirigidos a CD19 han revolucionado el tratamiento y mejorado los resultados de los pacientes con neoplasias hematológicas de linfocitos B R/R, lo que llevó a la aprobación por parte de la FDA de tres CAR CD19 (tisagenlecleucel, axicabtageno ciloleucel y brexucabtageno autoleucel) para la leucemia linfoblástica aguda R/R y/o ciertos linfomas no

hodgkinianos de linfocitos B. En el caso de la AML, la investigación clínica de la terapia con linfocitos T CAR aún se encuentra en una fase temprana y los resultados clínicos, principalmente con linfocitos T CAR CD33 y CD123, sugieren desafíos tanto en términos de seguridad como de eficacia, que se deben a la abundante expresión de CD33 y CD123 en hematopoyesis normal y heterogeneidad fenotípica en células tumorales de AML. En consecuencia, existe la necesidad de un nuevo formato de CAR combinatorio para R/R AML que tenga el potencial de proporcionar seguridad y eficacia mejoradas en relación con las terapias CAR alternativas actualmente en investigación clínica.

3. COMPENDIO DE LA INVENCION

La materia descrita en la presente proporciona receptores quiméricos que se dirigen a ADGRE2 y receptores quiméricos que se dirigen a CLEC12A, células que comprenden dichos receptores quiméricos y métodos para usar dichas células para tratamientos, por ejemplo, para tratar la leucemia mieloide aguda (AML).

En un aspecto, el objeto de la presente descripción proporciona receptores quiméricos que se dirigen a ADGRE2. En ciertas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que se une a ADGRE2, un dominio transmembrana y un dominio intracelular. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende: a) una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta; y/o b) una región variable de cadena ligera que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende un fragmento variable monocatenario (scFv), un Fab o un F(ab)₂. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende un scFv. En ciertas modalidades, el scFv es un scFv humanizado.

En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35. En determinadas modalidades, la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos

establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38. En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35; y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39, la SEQ ID NO: 43, la SEQ ID NO: 46, la SEQ ID NO: 49, la SEQ ID NO: 52, la SEQ ID NO: 55 o la SEQ ID NO: 146 . En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 49. En ciertas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:39.

En ciertas modalidades, la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 56 o SEQ ID NO: 147. En determinadas modalidades, la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 47 o SEQ ID NO: 50. En determinadas modalidades, la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40.

En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor

del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 52 o SEQ ID NO: 55; y

5 la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 % , alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 %

10 idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 56. En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 49; y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en las SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 47 o

15 SEQ ID NO: 50.

En determinadas modalidades,

- a) la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39 y la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40;
- 20 b) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 43, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 44;
- c) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 46, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de
- 25 aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 47;
- d) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 49, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 50;
- e) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos
- 30 establecida en la SEQ ID NO: 52, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 53;
- f) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 55 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 56; o

g) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:146 y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:147.

En determinadas modalidades,

5 a) la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39 y la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40;

b) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 43, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 44;

c) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 46, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 47; o

d) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 49, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 50.

En determinadas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39 y la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40.

20 En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende un enlazador puede entre la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera. En ciertas modalidades, el enlazador consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 149.

25 En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera se colocan desde el extremo N hasta el extremo C: V_H - V_L . En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende o es un scFv, que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 148. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígenos comprende o es un scFv, el que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 48 o SEQ ID NO: 51. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígenos comprende o es un scFv, el que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 41.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno se une a ADGRE2 con una constante de disociación (K_D) de menos de alrededor de 10^{-8} M, menos de alrededor de 10^{-9} M, menos de alrededor de 10^{-10} M, menos de alrededor de 10^{-11} M, menos de alrededor de 10^{-12} M, o menos de alrededor de 10^{-13} M. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno se une a ADGRE2 con una EC50 de entre alrededor de 1 y alrededor de 100 nM. En ciertas modalidades, la EC50 es entre alrededor de 10 y alrededor de 95 nM. En algunas modalidades, la EC50 es entre alrededor de 25 y alrededor de 75 nM.

En determinadas modalidades, el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD8, un polipéptido CD28, un polipéptido CD3 ζ , un polipéptido CD4, un polipéptido 4-1BB, un polipéptido OX40, un polipéptido ICOS, un polipéptido CTLA-4, un polipéptido PD-1, un polipéptido LAG-3, un polipéptido 2B4 o un polipéptido BTLA. En determinadas modalidades, el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD28.

En determinadas modalidades, el dominio intracelular comprende un polipéptido CD3 ζ . En determinadas modalidades, el polipéptido CD3 ζ es un polipéptido CD3 ζ modificado. En determinadas modalidades, el polipéptido CD3 ζ modificado comprende un ITAM1 natural, una variante de ITAM2 que consiste en dos mutaciones de pérdida de función y una variante de ITAM3 que consiste en dos mutaciones de pérdida de función. En determinadas modalidades, el ITAM1 natural consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 15. En determinadas modalidades, la variante ITAM2 consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 21. En determinadas modalidades, la variante ITAM3 consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 25. En determinadas modalidades, el polipéptido CD3 ζ modificado comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 27.

En determinadas modalidades, el dominio intracelular comprende además al menos una región de señalización coestimuladora. En determinadas modalidades, la al menos una región de señalización coestimuladora comprende un polipéptido CD28, un polipéptido 4-1BB, un polipéptido OX40, un polipéptido ICOS, un polipéptido DAP-10 o una combinación de estos. En determinadas modalidades, la al menos una región de señalización coestimuladora comprende un polipéptido CD28.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un receptor quimérico para antígeno (CAR), un receptor coestimulador quimérico (CCR) o una molécula de fusión de tipo TCR. En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un CAR.

En un aspecto, el objeto de la presente descripción proporciona receptores quiméricos que se dirigen a CLEC12A. En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que se une a CLEC12A, un dominio transmembrana y un dominio intracelular. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de

unión a antígeno comprende una región variable de cadena pesada que comprende:

- i) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71 o una modificación conservadora de esta;
- ii) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 82 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta;
- iii) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 91 o una modificación conservadora de esta;
- iv) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 98 o una modificación conservadora de esta;
- v) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta;
- vi) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 109 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta;
- vii) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, y

una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 114 o una modificación conservadora de esta;

viii) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 120 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 121 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 122 o una modificación conservadora de esta; o

ix) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 129 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 130 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 131 o una modificación conservadora de esta; y/o

una región variable de cadena ligera que comprende:

i) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74 o una modificación conservadora de esta;

ii) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 84 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85 o una modificación conservadora de esta;

iii) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 92 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 94 o una modificación conservadora de esta;

iv) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 99 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 151 o una modificación conservadora de esta;

v) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 104

o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 105 o una modificación conservadora de esta;

- 5 vi) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 110 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85 o una modificación conservadora de esta;
- 10 vii) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 115 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 116 o una modificación conservadora de esta;
- 15 viii) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 123 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 124 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 125 o una modificación conservadora de esta; o
- 20 ix) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 132 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 133 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 134 o una modificación conservadora de esta.

25 En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende un fragmento variable monocatenario (scFv), un Fab o un F(ab)₂. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende un scFv. En determinadas modalidades, el scFv es un scFv humano.

En determinadas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende:

- 30 a) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:69; una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:70; y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:71;
- b) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 82

y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83;

- c) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 91;
- 5 d) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 98;
- e) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83;
- 10 f) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 109, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83;
- g) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 114;
- 15 h) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 120, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 121 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 122; o
- 20 i) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 129, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 130 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 131.
- 25

En determinadas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende:

- a) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:69; una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:70; y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:71;
- 30 b) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 82 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83;
- c) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90

y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 91;
o

- d) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89,
una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90
y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 98.

En determinadas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71.

En determinadas modalidades, la región variable de cadena ligera comprende:

- a) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72,
una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73
y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74;
b) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 84,
una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73
y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85;
c) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 92,
una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93
y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 94;
d) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 99,
una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93
y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 151;
e) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 104,
una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73
y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 105;
f) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 110,
una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73
y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85;
g) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 115,
una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93
y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 116;

h) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 123, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 124 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 125; o

5 i) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 132, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 133 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 134.

En determinadas modalidades, la región variable de cadena ligera comprende:

10 a) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74;

b) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 84, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85;

15 c) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 92, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 94; o

20 d) una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 99, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 151.

En determinadas modalidades, la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74.

En ciertas modalidades, el receptor quimérico comprende:

30 a) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ

ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74;

5 b) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 82 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 84, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85;

10 c) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 91 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 92, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 94;

15 d) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 98 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 99, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 151;

20 e) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 104, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 105;

25

30

- f) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 109, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 110, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85;
- g) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 114 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 115, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 116;
- h) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 120, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 121 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 122 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 123, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 124 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 125; o
- i) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 129, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 130 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 131 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 132, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 133 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 134.

En determinadas modalidades,

- a) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de

aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74;

b) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 82 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 84, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85;

c) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 91 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 92, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 94; o

d) la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 98 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 99, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 151.

En determinadas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 y una CDR3 que comprende la

secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74.

5 En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la
10 SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 126 o la SEQ ID NO: 135. En determinadas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO:
15 117, SEQ ID NO: 126 o SEQ ID NO: 135. En determinadas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 95 o SEQ ID NO: 100. En ciertas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 75.

En ciertas modalidades, la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de
20 aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la
25 SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 136. En determinadas modalidades, la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 136. En determinadas modalidades, la región variable de cadena
30 ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 96 o la SEQ ID NO: 101. En determinadas modalidades, la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76.

En determinadas modalidades,

a) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida

en la SEQ ID NO: 75, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76;

b) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 86, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 87;

c) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 95, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 96;

d) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 100, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 101;

e) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 106, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 107;

f) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 111, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 112;

g) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 117, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 118;

h) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 126, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 127; o

i) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 135, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 136.

En ciertas modalidades, el receptor quimérico comprende:

a) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76;

b) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 86, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 87;

c) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida

en la SEQ ID NO: 95, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 96; o

- d) la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 100, y la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 101.

En determinadas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75 y la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende un enlazador puede entre la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera. En determinadas modalidades, el enlazador consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 149.

En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera se colocan desde el extremo N hasta el extremo V_H-V_L. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende o es un scFv, que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 128 o SEQ ID NO: 137. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígenos comprende o es un scFv, el que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 97 o la SEQ ID NO: 102. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígenos comprende o es un scFv, el que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 79.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno se une a CLEC12A con una constante de disociación (K_D) de menos de alrededor de 10^{-8} M, menos de alrededor de 10^{-9} M, menos de alrededor de 10^{-10} M, menos de alrededor de 10^{-11} M, menos de alrededor de 10^{-12} M, o menos de alrededor de 10^{-13} M. En determinadas modalidades, la K_D es alrededor de 0,1 pM o menos. En determinadas modalidades, la K_D es entre alrededor de 0,05 pM y alrededor de 0,5 pM. En determinadas modalidades, la K_D es entre alrededor de 0,1 nM y alrededor de 5,0 nM. En algunas modalidades, la K_D es entre alrededor de 0,3 nM y alrededor de 3,5 nM. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno se une a CLEC12A con una EC₅₀ de entre alrededor de 1 nM y alrededor de 100 nM.

En determinadas modalidades, el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD8, un polipéptido CD28, un polipéptido CD3 ζ , un polipéptido CD4, un polipéptido 4-1BB, un polipéptido OX40,

un polipéptido ICOS, un polipéptido CTLA-4, un polipéptido PD-1, un polipéptido LAG-3, un polipéptido 2B4 o un polipéptido BTLA. En ciertas modalidades, el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD8.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un receptor quimérico para antígeno (CAR), un receptor coestimulador quimérico (CCR) o una molécula de fusión de tipo TCR. En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un receptor coestimulador quimérico (CCR).

En determinadas modalidades, el dominio intracelular no comprende un polipéptido CD3ζ. En determinadas modalidades, el dominio intracelular comprende al menos una región de señalización coestimuladora. En determinadas modalidades, la al menos una región de señalización coestimuladora comprende un polipéptido CD28, un polipéptido 4-1BB, un polipéptido OX40, un polipéptido ICOS, un polipéptido DAP-10 o una combinación de estos. En determinadas modalidades, la al menos una región de señalización coestimuladora comprende un polipéptido 4-1BB.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico se expresa a partir de un vector. En determinadas modalidades, el vector es un vector viral. En determinadas modalidades, el vector viral es un vector retroviral.

El objeto descrito en la presente proporciona además células que comprenden el receptor quimérico descrito en la presente. En determinadas modalidades, la célula comprende un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente. En determinadas modalidades, la célula comprende un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente. En determinadas modalidades, la célula comprende a) un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y b) un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente. En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un receptor quimérico para antígeno (CAR) y el receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un receptor coestimulador quimérico (CCR).

En determinadas modalidades, el CAR comprende un dominio extracelular de unión al antígeno que se une a ADGRE2 y comprende:

a) una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta; y/o

b) una región variable de cadena ligera que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una

modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35; y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En determinadas modalidades,

a) la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39; y/o

b) la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40.

En determinadas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39 y la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40.

En determinadas modalidades, el CCR comprende un dominio extracelular de unión al antígeno que se une a CLEC12A y comprende:

a) una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71 o una modificación conservadora de esta; y/o

b) una región variable de cadena ligera que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72 o una modificación conservadora de esta,

una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74 o una modificación conservadora de esta.

En determinadas modalidades, la región variable de cadena pesada comprende una CDR1 que
 5 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71 y la región variable de cadena ligera comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3
 10 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74.

En determinadas modalidades,

a) la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor
 15 del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75; y/o

b) la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor
 20 del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76.

En determinadas modalidades, la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75 y la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76.
 25

En determinadas modalidades, la célula se transduce con el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 y/o el receptor quimérico dirigido a CLEC12A. En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 y/o el receptor quimérico dirigido a CLEC12A se expresan de forma constitutiva en la superficie de la célula. En determinadas modalidades, la célula es una célula
 30 inmunosensible. En determinadas modalidades, la célula es una célula del linaje linfóide o una célula del linaje mieloide. En ciertas modalidades, la célula se selecciona del grupo que consiste en un linfocito T, un linfocito citolítico natural (NK), una célula madre a partir de la cual se puede diferenciar una célula linfóide y una célula madre a partir de la cual se puede diferenciar una célula mieloide. En determinadas

modalidades, la célula es un linfocito T. En ciertas modalidades, el linfocito T se selecciona del grupo que consiste en linfocitos T auxiliares, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T de memoria, linfocitos T reguladores, linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), linfocitos T citolíticos naturales, linfocitos T invariantes asociados a la mucosa y linfocitos T $\gamma\delta$. En determinadas modalidades, la célula es un
 5 linfocito citolítico natural (NK). En ciertas modalidades, el linfocito NK se deriva de una célula madre. En determinadas modalidades, la célula madre es una célula madre pluripotente. En determinadas modalidades, la célula madre pluripotente es una célula madre embrionaria o una célula madre pluripotente inducida.

Además, el objeto descrito en la presente proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican
 10 los receptores quiméricos descritos en la presente. En determinadas modalidades, la molécula de ácido nucleico codifica un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente. En determinadas modalidades, la molécula de ácido nucleico codifica un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente.

En determinadas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende además un promotor
 15 que está operativamente unido al receptor quimérico. En determinadas modalidades, el promotor es endógeno o exógeno. En determinadas modalidades, el promotor exógeno se selecciona del grupo que consiste en un promotor del factor de elongación (EF) 1, un promotor de citomegalovirus (CMV) temprano inmediato, un promotor temprano del virus del simio 40 (SV40), un promotor de la fosforilacetato cinasa (PGK), un promotor de metalotioneína y un promotor de ubiquitina C. En
 20 determinadas modalidades, el promotor es un promotor inducible. En determinadas modalidades, el promotor inducible se selecciona del grupo que consiste en un promotor de elemento de respuesta transcripcional (TRE) NFAT, un promotor de CD69, un promotor de CD25, un promotor de IL-2, un promotor de 4-1BB, un promotor de PD1 y un promotor de LAG3. En determinadas modalidades, el promotor es un promotor endógeno. En determinadas modalidades, el promotor endógeno se
 25 selecciona de un promotor alfa de TCR, un promotor beta de TCR, y un promotor de beta 2-microglobulina.

El objeto descrito en la presente también proporciona una composición de ácido nucleico que comprende una primera molécula de ácido nucleico que codifica un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y una segunda molécula de ácido nucleico que codifica un receptor
 30 quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente.

El objeto descrito en la presente también proporciona vectores que comprenden la molécula de ácido nucleico descrita en la presente o la composición de ácido nucleico descrita en la presente. En determinadas modalidades, el vector es un vector viral. En determinadas modalidades, el vector es un vector retroviral.

El objeto descrito en la presente también proporciona células con expresión de la molécula de ácido nucleico descrita en la presente o la composición de ácido nucleico descrita en la presente. En determinadas modalidades, la célula es un linfocito T.

5 El objeto de la presente descripción proporciona composiciones que comprenden la célula descrita en la presente. En determinadas modalidades, la composición es una composición farmacéutica que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la composición comprende entre alrededor de 25×10^6 y alrededor de 150×10^6 células. En determinadas modalidades, la composición comprende entre alrededor de 25×10^6 y alrededor de 50×10^6 células. En determinadas modalidades, la composición comprende alrededor de $2,5 \times 10^6$ células.

10 El objeto descrito en la presente proporciona además varios métodos de uso de las células descritas en la presente. La materia descrita en la presente proporciona métodos para reducir la carga tumoral en un sujeto. En algunas modalidades, el método comprende administrar al sujeto las células o la composición como se describe en la presente. En determinadas modalidades, el método reduce la cantidad de células tumorales, reduce el tamaño del tumor y/o erradica el tumor en el sujeto.

15 El objeto descrito en la presente proporciona métodos para aumentar o prolongar la supervivencia de un sujeto que tiene un tumor. En algunas modalidades, los métodos comprenden administrar al sujeto las células o la composición como se describe en la presente.

20 El objeto descrito en la presente proporciona métodos para tratar y/o prevenir un tumor en un sujeto. En algunas modalidades, los métodos comprenden administrar al sujeto las células o la composición como se describe en la presente.

25 En ciertas modalidades, el tumor expresa ADGRE2 y/o CLEC12A. En ciertas modalidades, el tumor es cáncer. En determinadas modalidades, el tumor es una neoplasia sanguínea. En ciertas modalidades, el tumor se selecciona del grupo que consiste en mieloma múltiple, leucemia, linfomas y neoplasias malignas mieloides. En ciertas modalidades, la leucemia se selecciona del grupo que consiste en leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crónica (CML), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia promielocítica aguda (APL), leucemia linfocítica mixta fenotipo de leucemia aguda (MLL), leucemia de células pilosas y leucemia prolinfocítica de linfocitos B. En ciertas modalidades, la leucemia es leucemia mieloide aguda (AML). En determinadas modalidades, la AML es leucemia mieloide aguda recidivante o resistente (R/R AML). En determinadas modalidades, las neoplasias mieloides se seleccionan del grupo que consiste en síndromes mielodisplásicos (MDS), neoplasias mieloproliferativas (MPN), neoplasias mieloides o linfoides (por ejemplo, neoplasias mieloides o linfoides con eosinofilia y rearreglo del receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas alfa (PDGFRA), receptor de factor de crecimiento derivado de

plaquetas beta (PDGFRB) o receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 1 (FGFR1) o con PCM1-JAK2), leucemia mieloide aguda (AML), neoplasia de células dendríticas plasmocitoides, linfoma o leucemia linfoblástica de linfocitos B y linfoma o leucemia linfoblástica de linfocitos T). En determinadas modalidades, la neoplasia maligna mieloides comprenden síndromes mielodisplásicos (MDS). En ciertas modalidades, el sujeto es un humano.

Además, el objeto descrito en la presente proporciona métodos para producir células que comprenden los receptores quiméricos descritos en la presente. En ciertas modalidades, el método comprende introducir en la célula una molécula de ácido nucleico que codifica el receptor quimérico descrito en la presente.

Además, el objeto descrito en la presente proporciona métodos para producir una célula que comprende un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente. En ciertas modalidades, el método comprende introducir en la célula una molécula de ácido nucleico que codifica el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 y una molécula de ácido nucleico que codifica el receptor quimérico dirigido a CLEC12A descritos en la presente.

4. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La siguiente divulgación detallada, dada a modo de ejemplo, pero sin intención de limitar la invención a modalidades específicas descritas, puede entenderse junto con los dibujos adjuntos.

En las figuras 1A y 1B se ilustran los perfiles de expresión de antígenos diana de ADGRE2, CD33 y CD123 evaluados mediante citometría de flujo de muestras frescas de pacientes con AML (sangre periférica o médula ósea); n = 16 pacientes adultos con r/r AML con la enfermedad morfológica. La expresión diana se comparó entre células AML en masa (CD45_{dim}/SSC_{low} gate) y células madre leucémicas [LSC; Lin-CD34+CD38-(CD45RA+) dentro de la ventana de células AML en masa]. Las ventanas para la positividad del objetivo se establecieron con base en la población de control negativo de la misma muestra (linfocitos T o B). En la Figura 1A se muestra el porcentaje de células de AML positivas para el objetivo dentro de la población global o de LSC de una muestra de paciente individual representada por cada punto. En la mayoría de los pacientes con AML evaluados, > 90 % de las células de AML fueron positivas para ADGRE2, tanto para a granel como LSC. En la Figura 1B se muestra el porcentaje de la población de pacientes de AML evaluada con > 70 % de células de AML positivas para el objetivo. Todos los pacientes evaluados con AML tenían > 70 % de células de AML positivas para ADGRE2, tanto para granel como para LSC.

En la Figura 2 se ilustra un esquema de CAR, CCR y CAR+CCR.

En la Figura 3 se muestra la justificación del enfoque de ADCLEC.syn1 para mejorar la eficacia antileucémica en comparación con CD33 y CD123-CAR. ADGRE2-CAR solo proporciona cierta

actividad antileucémica, pero puede estar limitada debido a los mecanismos que evitan ADGRE2 bajo. CLEC12A-CCR solo no media ninguna lisis celular. ADCLEC.syn1 combina un ADGRE2-CAR de baja afinidad con un CLEC12A-CCR de alta afinidad, lo que aumenta la avidéz dirigida a AML y reduce el riesgo de eludir la AML con bajo ADGRE2. Además, la transcoestimulación dependiente de CLEC12A-CCR a través de 4-1BB mejora más la funcionalidad de los linfocitos T. En comparación, los enfoques de CD33-CAR o CD123-CAR de un solo objetivo podrían tener una eficacia limitada debido a que se evitan el antígeno bajo y la heterogeneidad fenotípica (vea los perfiles de objetivos en la Figura 1).

En las Figuras 4A a 4C se ilustran los perfiles de expresión de proteínas de ADGRE2, CLEC12A (CD371), CD33 y CD123 en hematopoyesis normal y tejidos no hematopoyéticos, que muestran un perfil de expresión de ADGRE2 y CLEC12A en gran medida no superpuesto. En las Figuras 4A y 4B se muestran perfiles de coexpresión de citometría de flujo de ADGRE2/CLEC12A frente a CD33/CD123 en poblaciones de células de médula ósea de donantes adultos normales representativas (selección: monocitos – CD45_{alto}/SSC_{medio}/CD14+, granulocitos – CD45_{tenue}/SSC_{alto}, HSC – CD45_{tenue}/SSC_{bajo}/CD34+/CD38-/CD45RA-/CD90+, linfocitos T –CD45_{alto}/SSC_{bajo}/CD3+, linfocitos B – CD45_{alto}/SSC_{bajo}/CD19+). En la Figura 4C se muestra un mapa de calor que representa el resumen de la tinción inmunohistoquímica para ADGRE2 y CLEC12A en tejidos humanos normales incluidos en parafina y fijados con formalina. La intensidad de la tinción se refiere a la positividad celular, lo que excluye los fluidos con una alta probabilidad de tinción inespecífica. Se observó la coexpresión de ADGRE2/CLEC12A esperada en células mieloides en tejidos relacionados con el sistema inmunitario (principalmente linaje monocítico), pero no se encontró una expresión superpuesta o limitada en otros tejidos evaluados.

En la Figura 5 se muestra la justificación del enfoque de ADCLEC.syn1 para mejorar el perfil de seguridad en comparación con CD33-CAR y CD123-CAR. El ADGRE2-CAR con afinidad optimizada y fuerza de señalización de CD3ζ precisa por sí solo evita las células con niveles bajos o muy bajos de ADGRE2 (HSC o granulocitos, respectivamente). CLEC12A-CCR de alta afinidad solo no media ninguna lisis celular. ADCLEC.syn1 combina un ADGRE2-CAR de baja afinidad con un CLEC12A-CCR de alta afinidad. Las células hematopoyéticas normales tienen un perfil de expresión de ADGRE2 y CLEC12A en gran medida no superpuesto, y CLEC12A es negativo en HSC. Por lo tanto, la adición de un CLEC12A-CCR no aumenta el riesgo de toxicidad por HSC.

La Figura 6 ilustra el esquema de selección del aglutinante de scFv de ADGRE2.

En las Figuras 7A a 7C se ilustra el ensayo de citotoxicidad de CAR de 18 h *in vitro* en el contexto de diferentes niveles de expresión objetivo de ADGRE2. Se observó un perfil favorable para los principales scFv de ADGRE2 humanizados, con una citotoxicidad máxima a niveles altos de ADGRE2 y una citotoxicidad mínima a niveles muy bajos de ADGRE2. Se evaluaron diferentes candidatos scFv

de ADGRE2 humanizados y el scFv de 2A1 original en la estructura principal del vector CAR 28z1XX retroviral SFG; para cada scFv ADGRE2, se estudiaron 2 péptidos señal, uno que contenía nuestro péptido señal CD8 α establecido y el otro que contenía un péptido señal IgHV1-4 alternativo. En líneas coloreadas se muestran 6 scFv con características de citotoxicidad. Los candidatos scFv restantes (no incluidos en la leyenda) se muestran en gris. Los linfocitos T CAR se cocultivaron durante 18 h con líneas celulares de AML MOLM13 que expresan diferentes niveles de ADGRE2: alto (WT, Figura 7A), bajo (clon 1E8, Figura 7B) y muy bajo (clon 9D6, Figura 7C). La citotoxicidad se midió en función de la señal de luciferasa liberada por las células MOLM13.

En la figura 8 se ilustra la eficacia de CAR antitumoral *in vivo* de seis (6) scFv de ADGRE2 humanizados en el contexto de diferentes niveles de expresión diana de ADGRE2. Modelo de eficacia CAR antitumoral *in vivo* que muestra un perfil favorable para los principales scFv de ADGRE2 humanizado, con una eficacia potente a niveles altos de ADGRE2, citotoxicidad reducida a niveles bajos de ADGRE2 y ausencia de citotoxicidad a niveles muy bajos de ADGRE2. Se evaluaron seis candidatos de scFv de ADGRE2 humanizados diferentes y el scFv de 2A1 original en la estructura principal del CAR 28z1XX retroviral con base en SFG. Experimento de xenoinjerto en línea celular de AML MOLM13 *in vivo* con ratones NSG de 6 a 8 semanas. El día -5, se inyectó a los ratones a través de la vena de la cola el clon de la línea celular MOLM13 indicado (dosis: 1E6 células por ratón). En el día -1, se confirmó el injerto de AML a través de imágenes de bioluminiscencia *in vivo* basadas en fLuc. En el día 0, se inyectó linfocitos T CAR a los ratones a través de la vena de la cola (dosis: 3E5 células positivas para CAR por ratón). Posteriormente, la carga de AML se cuantificó mediante imágenes de bioluminiscencia y se representa mediante el flujo total (p/s).

En la Figura 9 se ilustra el esquema de selección del aglutinante de scFv de CLEC12A.

Las Figuras 10A y 10B ilustran la citotoxicidad de CAR *in vitro* de scFv de CLEC12A en formato TRAC CAR-28z1XX en el contexto de las líneas celulares de AML U937 y MOLM13. Ensayo de citotoxicidad de CAR de 18 h *in vitro* en el que se muestra un perfil favorable para los scFv de CLEC12A líderes, con una potente eficacia a niveles altos y bajos de CLEC12A. Se evaluaron diferentes candidatos de scFv de CLEC12A en la estructura principal de CAR TRAC-AAV 28z1XX. En líneas coloreadas se muestran los nueve (9) scFv con la mayor eficacia en el contexto de diferentes niveles de CLEC12A. En la figura 10A se muestra la citotoxicidad con la línea celular U937 con CLEC12A alto. En la Figura 10B se muestra la citotoxicidad con la línea celular MOLM13 con CLEC12A bajo. Los candidatos scFv restantes se muestran en gris. Los linfocitos T se cocultivaron durante 18 h con líneas celulares de AML. La citotoxicidad se midió en función de la señal de luciferasa de las líneas celulares de AML.

En la Figura 11 se ilustra el modelo de eficacia de CAR antitumoral *in vivo* que muestra una alta

eficacia para los scFv de CLEC12A líderes. Se evaluaron nueve (9) candidatos de scFv de CLEC12A en la estructura principal de CAR TRAC-AAV 28z1XX. Experimento de xenoinjerto en línea celular de AML U937 *in vivo* con ratones NSG de 6 a 8 semanas. El día -4, se inyectó el clon de la línea celular U937 indicada a través de la vena de la cola (dosis: 1E6 células por ratón). En el día -1, se confirmó el
 5 injerto de AML a través de imágenes de bioluminiscencia *in vivo* basadas en ffLuc. El día 0, se inyectaron linfocitos T CAR a través de la vena de la cola (dosis: 4E5 células positivas para CAR por ratón). Posteriormente, la carga de AML se cuantificó mediante imágenes de bioluminiscencia y se representa mediante el flujo total (p/s).

En las Figuras 12A a 12C se ilustran los ensayos de eficacia de CAR *in vitro* e *in vivo* que validan
 10 el concepto de ADCLEC.syn1 (como se describe como un esquema en la Figura 3). En la Figura 12A se muestra el ensayo de citotoxicidad de CAR de 18 h *in vitro*. Los linfocitos T transducidos con ADCLEC.syn1 se cocultivaron con la línea celular de linfoma murino EL4 que no expresa objetivo (ADGRE2-/CLEC12A-) o que sobreexpresa el objetivo CAR solo (ADGRE2+/CLEC12A-), el objetivo CCR solo (ADGRE2-/CLEC12A+) o ambos objetivos CAR y CCR (ADGRE2+/CLEC12A+). Se usó la
 15 construcción de CAR 1928z1XX dirigida a CD19 como control negativo. El % de citotoxicidad indica la eficacia de destrucción específica del objetivo en una proporción determinada de efector:objetivo (E:T). En las Figuras 12B y 12C se muestra un experimento de xenoinjerto de línea celular de AML MOLM13 *in vivo* con ratones NSG de 6 a 8 semanas. El día -5, se inyectó el clon de la línea celular MOLM13 indicada a través de la vena de la cola (dosis: 1×10^6 células por ratón). En el día -1, se confirmó el
 20 injerto de AML a través de imágenes de bioluminiscencia *in vivo* basadas en ffLuc. El día 0, se inyectaron linfocitos T CAR a través de la vena de la cola (dosis: 5×10^5 células positivas para CAR por ratón). Posteriormente, la carga de AML se cuantificó mediante imágenes de bioluminiscencia y se representa mediante el flujo total (p/s).

En la figura 13 se ilustra un mapa de restricción de pSFG-ADCLEC.syn1 (8940 pb).

En la Figura 14 se ilustra el diseño del vector gammaretroviral para la construcción bicistónica
 25 ADCLEC.syn1 que incluye ADGRE2ADGRE2-A-CAR y CLEC12ACLEC12A-A-CCR. Abreviaturas: LTR = repetición terminal larga, SD = sitio donante de empalme, SA = sitio aceptor de empalme, SP = péptido señal, scFv = fragmento variable monocatenario, H = bisagra, TM = transmembrana, C = dominio coestimulador, S = dominio estimulador .

En la Figura 15 se ilustra un plan de fabricación de células CAR T ADCLEC.syn1 representativo.

En la Figura 16 se ilustra un algoritmo para guiar el curso del tratamiento después de la
 30 evaluación de la enfermedad D30.

En las Figuras 17A y 17B se ilustran ensayos de proteína de membrana solubilizada (SMP).

En las Figuras 18A y 18B se ilustran estrategias de selección combinatoria. En la Figura 18A se

muestran las estrategias de activación de CAR combinatorias descritas anteriormente. En la Figura 18B se muestra la estrategia de activación «IF-BETTER».

En las Figuras 19A y 19B se ilustran los ensayos de eficacia de CAR *in vitro* que validan la estrategia de activación «IF-BETTER» en el contexto de la selección conjunta de ADGRE2/CLEC12A a través de ADCLEC.syn1. En la Figura 19A se muestra la citotoxicidad inducida por linfocitos T transducidos con ADCLEC.syn1 y cocultivados con la línea celular de linfoma murino EL4 que no expresa el objetivo (ADGRE2⁻/CLEC12A⁻) o que sobreexpresa el objetivo CAR solo (ADGRE2⁺/CLEC12A⁻), objetivo CCR solo (ADGRE2⁻/CLEC12A⁺), o tanto CAR como CCR como objetivo (ADGRE2⁺/CLEC12A⁺). El CAR 1928z1XX se utilizó como control negativo. En la Figura 19B se muestra la citotoxicidad inducida por linfocitos T transducidos con ADGRE2-CAR, CLEC12A-CCR o ADCLEC.syn1, o no transducidos cocultivados con células objetivo MOLM13 que se modificaron para expresar diferentes niveles de ADGRE2 (es decir, ADGRE2 alto (WT), ADGRE2 bajo y ADGRE2 muy bajo).

En la Figura 20 se ilustra la validación *in vivo* de la estrategia de activación «IF-BETTER» utilizando linfocitos T ADCLEC.syn1. El crecimiento tumoral y la supervivencia se determinaron en modelos de xenoinjerto de AML en NSG que recibieron una inyección de linfocitos T no traducidos o transducidos con ADGRE2-CAR-, ADGRE2-CAR +CLEC12A-CAR-, CLEC12A-CCR- o ADCLEC.syn1.

En la Figura 21 se ilustra la prueba de estrés *in vivo* de ADCLEC.syn1 a través de la titulación de la dosis de linfocitos T y la reexposición a AML. El crecimiento tumoral y la supervivencia se determinaron en modelos de xenoinjerto de AML en NSG que recibieron una inyección de linfocitos T transducidos con ADCLEC.syn1 en diferentes dosis.

5. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El objeto descrito en la presente proporciona receptores quiméricos dirigidos a ADGRE2 y receptores quiméricos dirigidos a CLEC12A. El objeto descrito en la presente proporciona además células que comprenden el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente, células que comprenden el receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente y células que comprenden el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y el receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente. Las células pueden ser células inmunosensibles, por ejemplo, células inmunosensibles modificadas genéticamente (por ejemplo, linfocitos T o linfocitos NK). El objeto descrito en la presente también proporciona métodos de uso de tales células para tratamientos, por ejemplo, para tratar y/o prevenir un tumor asociado con ADGRE2 y/o CLEC12A (por ejemplo, AML).

Las modalidades no taxativas del objeto descrito en la presente se describen mediante la presente memoria descriptiva y los ejemplos.

A efectos de claridad de la descripción y no de modo taxativo, la descripción detallada se divide en las siguientes subsecciones:

- 5.1. Definiciones
- 5.2. Receptores quiméricos;
- 5.3. Dominios extracelulares de unión a antígeno de receptores quiméricos dirigidos a ADGRE2;
- 5.4. Ejemplos de receptores quiméricos dirigidos a ADGRE2;
- 5.5. Dominios extracelulares de unión a antígeno de receptores quiméricos dirigidos a CLEC12A
- 5.6. Ejemplos de receptores quiméricos dirigidos a CLEC12A;
- 5.7. Células;
- 5.8. Modificaciones genéticas, vector y moléculas de ácido nucleico;
- 5.9. Formulaciones y administración
- 5.10 Métodos de tratamiento

5.1. Definiciones

A menos que se indique de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que entiende normalmente un experto en la técnica a la que pertenece el objeto descrito en la presente. Las siguientes referencias proporcionan al experto una definición general de muchos de los términos usados en la materia descrita en la presente: Singleton et ál., *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology* (2.^a ed. 1994); *The Cambridge Dictionary of Science and Technology* (Walker ed., 1988); *The Glossary of Genetics*, 5.^a Ed., R. Rieger et ál. (eds.), Springer Verlag (1991); y Hale & Marham, *The Harper Collins Dictionary of Biology* (1991). Tal como se usan en este documento, los siguientes términos tienen los significados que se les atribuyen a continuación, a menos que se especifique lo contrario.

Como se usan en la presente, «alrededor de» o «aproximadamente» significan dentro de un rango de error aceptable para el valor particular determinado por un experto en la técnica, que depende en parte de cómo se mide o se determina el valor, es decir, las limitaciones del sistema de medida. Por ejemplo, «alrededor de» puede significar dentro de 3 o más de 3 desviaciones estándar, de acuerdo con la práctica en la técnica. Alternativamente, «alrededor de» puede significar un rango de hasta el 20 %, preferiblemente hasta el 10 %, más preferiblemente hasta el 5 % e incluso más preferiblemente hasta el 1 % de un valor dado. Alternativamente, en particular con respecto a sistemas o procesos biológicos, el término puede significar dentro de un orden de magnitud, preferiblemente, hasta 5 veces y más preferiblemente, hasta el doble de un valor.

Por «célula inmunosensible» se entiende una célula que funciona en una respuesta inmunitaria

o un progenitor, o descendencia de esta. En ciertas modalidades, la célula inmunosensible es una célula de linaje linfoide. Los ejemplos no limitantes de células de linaje linfoide incluyen linfocitos T, linfocitos citolíticos naturales (NK), linfocitos B y células madre a partir de las cuales se pueden diferenciar células linfoides. En determinadas modalidades, la célula inmunosensible es una célula de linaje mieloide.

Por «activar una célula inmunosensible» se entiende la inducción de transducción de señales o cambios en la expresión de proteínas en la célula que dan como resultado el inicio de una respuesta inmunitaria. Por ejemplo, cuando las cadenas CD3 se agrupan en respuesta a la unión de ligandos y motivos de inhibición basados en tirosina de inmunorreceptores (ITAM), se produce una cascada de transducción de señales. En determinadas modalidades, cuando un TCR endógeno o un CAR exógeno se une a un antígeno, se produce la formación de una sinapsis inmunológica que incluye la agrupación de muchas moléculas cerca del receptor unido (por ejemplo, CD4 o CD8, CD3 $\gamma/\delta/\epsilon/\zeta$, etc.). Este agrupamiento de moléculas de señalización unidas a la membrana permite que los motivos ITAM contenidos dentro de las cadenas CD3 se fosforilen. Esta fosforilación, a su vez, inicia una vía de activación de linfocitos T que finalmente activa factores de transcripción, como NF- κ B y AP-1. Estos factores de transcripción inducen la expresión génica global del linfocito T para aumentar la producción de IL-2 para la proliferación y expresión de proteínas de linfocitos T reguladoras maestras con el fin de iniciar una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T.

Por «estimular una célula inmunosensible» se entiende una señal que da como resultado una respuesta inmunitaria robusta y sostenida. En varias modalidades, esto ocurre después de la activación de células inmunitarias (por ejemplo, linfocitos T) o mediada concomitantemente a través de receptores que incluyen, entre otros, CD28, CD137 (4-1BB), OX40, CD40 e ICOS. Recibir múltiples señales estimuladoras puede ser importante para montar una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T robusta y a largo plazo. Los linfocitos T pueden inhibirse rápidamente y dejar de responder al antígeno. Si bien los efectos de estas señales coestimuladoras pueden variar, generalmente dan como resultado una mayor expresión génica para generar linfocitos T antiapoptóticos, proliferativos y de larga vida que responden de manera robusta al antígeno para una erradicación completa y sostenida.

Como se usa en el presente documento, el término «anticuerpo» significa no solo moléculas de anticuerpo intactas, sino también fragmentos de moléculas de anticuerpo que retienen la capacidad de unión a inmunógeno. Dichos fragmentos también son conocidos en la técnica y se emplean regularmente tanto *in vitro* como *in vivo*. En consecuencia, como se usa en este documento, el término «anticuerpo» significa no solo moléculas de inmunoglobulina intactas, sino también los fragmentos activos conocidos F(ab')₂ y Fab. Los fragmentos F(ab')₂ y Fab que carecen del fragmento Fe del anticuerpo intacto se eliminan más rápidamente de la circulación y pueden tener menos unión tisular

no específica de un anticuerpo intacto (Wahl et ál., *Nucl Med* (1983) ;24:316-325). Como se usa en la presente, incluyen anticuerpos naturales completos, anticuerpos biespecíficos; anticuerpos quiméricos; fragmentos Fab, Fab', de la región V monocatenarios (scFv), polipéptidos de fusión y anticuerpos no convencionales. En ciertas modalidades, un anticuerpo es una glucoproteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada está compuesta por una región variable de cadena pesada (abreviada en la presente como V_H) y una región constante de cadena pesada (C_H). La región constante de cadena pesada está compuesta por tres dominios CH1, CH2, y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como V_L) y una región constante de cadena ligera (C_L). La región constante de cadena ligera comprende un dominio, C_L. Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la inumonoglobulina a los factores o tejidos hospedadores, incluidas varias células del sistema inmunitario (p. ej., células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema de complemento clásico.

Como se usa en el presente documento, las «CDR» se definen como las secuencias de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de un anticuerpo que son las regiones hipervariables de las cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, Kabat et ál., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 4th US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987), o sistema de numeración IMGT (Lefranc, *The Immunologist* (1999); 7:132-136; Lefranc et ál., *Dev. Comp. Immunol.* (2003);27:55-77). Generalmente, los anticuerpos comprenden tres CDR de cadena pesada y tres de cadena ligera o regiones CDR en la región variable. Las CDR proporcionan la mayoría de los residuos de contacto para la unión del anticuerpo al antígeno o epítipo. En determinadas modalidades, las regiones CDR se identifican de acuerdo con el sistema de numeración Kabat. En ciertas modalidades, las regiones CDR se identifican con el sistema de numeración IMGT accesible en http://www.imgt.org/IMGT_vquest/input.

Un «fragmento variable monocatenario» o «scFv» es una proteína de fusión de las regiones variables de las cadenas pesada (V_H) y ligera (V_L) de una inmunoglobulina (por ejemplo, de ratón o humana) unida de forma covalente para formar un heterodímero V_H::V_L. Las cadenas pesadas (V_H) y ligeras (V_L) se unen directamente o se unen mediante un enlazador que codifica un péptido (por ejemplo, 10, 15, 20, 25 aminoácidos), que conecta el extremo N de la V_H con el extremo C de la V_L, o

el extremo C de la V_H con el extremo N de la V_L. El enlazador generalmente es rico en glicina para flexibilidad, así como en serina o treonina para solubilidad. El enlazador puede unir la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del dominio de unión al antígeno extracelular. Los ejemplos no taxativos de enlazadores se describen en Shen et ál., Anal. Chem. 80(6):1910-1917 (2008) y WO 2014/087010, cuyo contenido se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad. En determinadas modalidades, el enlazador es un enlazador G4S.

En determinadas modalidades, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, la que se proporciona a continuación:

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS [SEQ ID NO: 1]

En determinadas modalidades, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, la que se proporciona a continuación:

GGGGS GGGGS GGGGS [SEQ ID NO: 2]

En determinadas modalidades, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, la que se proporciona a continuación:

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS [SEQ ID NO: 3]

En determinadas modalidades, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, la que se proporciona a continuación:

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS [SEQ ID NO: 4]

En determinadas modalidades, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, la que se proporciona a continuación:

GGGGS [SEQ ID NO: 5]

En determinadas modalidades, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, la que se proporciona a continuación:

GGGGS GGGGS [SEQ ID NO: 6]

En determinadas modalidades, el enlazador comprende los primeros tres aminoácidos de la región constante de la cadena pesada. En determinadas modalidades, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:149, la que se proporciona a continuación:

ASTGGGGS GGGGS GGGGS [SEQ ID NO: 149]

A pesar de la eliminación de las regiones constantes y la introducción de un enlazador, las proteínas de scFv conservan la especificidad de la inmunoglobulina original. Los anticuerpos polipeptídicos Fv monocatenarios pueden expresarse a partir de un ácido nucleico que comprende secuencias codificantes de V_H- y V_L- como describen Huston, et ál. *Proc. Nat. Acad. Sci. Estados Unidos*, (1988); 85:5879-5883; patentes de EE.UU. n.º 5 091 513, 5 132 405 y 4 956 778; y

publicaciones de patentes de EE.UU. n.º 20050196754 y 20050196754. Se han descrito scFv antagonistas que tienen actividad inhibitoria (ver, p. ej., Zhao et ál., *Hybridoma (Larchmt)* (2008); 27(6):445-51; Peter et ál., *J Cachexia Sarcopenia Muscle* (2012); 12 de agosto; Shieh et ál., *J Immunol* (2009); 183(4):2277-85; Giomarelli et ál., *Thromb Haemost* (2007); 97(6):955-63; Fife et. ál., *J Clin Invest* (2006); 116 (8): 2252-61; Brocks et ál., *Immunotechnology* 1997 3 (3): 173-84; Moosmayer et ál., *Ther Immunol* 1995 2 (10): 31-40). Se han descrito scFv agonistas con actividad estimuladora (Peter et ál., *J Biol Chem* (2003); 25278(38):36740-7; Xie et ál., *Nat Biotech* 1997 15(8):768-71; Ledbetter et ál., *Crit Rev Immunol* (1997); 17(5-6):427-55; Ho et ál., *BioChim Biophys Acta* (2003); 1638(3):257-66).

El «receptor quimérico para antígeno» o «CAR» tal como se usa en el presente documento se refiere a una molécula que comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que se fusiona con un dominio de señalización intracelular que es capaz de activar o estimular una célula inmunosensible. En algunas modalidades, el CAR también comprende un dominio transmembrana. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a un CAR comprende un scFv. El scFv se puede derivar de la fusión de las regiones pesada y ligera variables de un anticuerpo. De manera alternativa o adicional, el scFv puede derivar de Fab (en lugar de un anticuerpo, por ejemplo, obtenido de bibliotecas de Fab). En diversas modalidades, el scFv se fusiona con el dominio transmembrana y luego con un dominio de señalización intracelular.

El «receptor coestimulador quimérico» o «CCR» se refiere a un receptor quimérico que se une a un antígeno y proporciona señales coestimuladoras, pero no proporciona por sí solo una señal de activación. El CCR se describe en Krause, et ál., *J. Exp. Med.* (1998); 188(4):619-626, y US20020018783, cuyo contenido se incorpora mediante esta referencia en su totalidad. Los CCR imitan las señales coestimuladoras, pero, a diferencia de los CAR, no proporcionan por sí solos una señal de activación, p. ej., los CCR carecen de un polipéptido CD3ζ.

Por «sustancialmente idéntico» o «sustancialmente homólogo» se entiende un polipéptido o una molécula de ácido nucleico que presenta al menos alrededor de un 50 % de homología o identidad con una secuencia de aminoácidos de referencia (por ejemplo, cualquiera de las secuencias de aminoácidos descritas en el presente documento) o una secuencia de ácido nucleico de referencia (por ejemplo, cualquiera de las secuencias de ácido nucleico descritas en este documento). En algunos aspectos, dicha secuencia es al menos alrededor del 60 %, al menos alrededor del 65 %, al menos alrededor del 70 %, al menos alrededor del 75 %, al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95 %, al menos alrededor del 99 % o al menos alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácido o ácido nucleico que se usa para comparación.

La identidad de secuencia se puede medir utilizando un programa informático de análisis de

secuencia (por ejemplo, el Sequence Analysis Software Package del Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, Wis. 53705, los programas BLAST, BESTFIT, GAP o PILEUP/PRETTYBOX). Tal software empareja secuencias idénticas o similares mediante la asignación de grados de homología a varias sustituciones, eliminaciones y/u otras modificaciones. Las sustituciones conservadoras típicamente incluyen sustituciones dentro de los siguientes grupos: glicina, alanina; valina, isoleucina, leucina; ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina; serina, treonina; lisina, arginina; y fenilalanina, tirosina. En un enfoque ilustrativo para determinar el grado de identidad, se puede utilizar un programa BLAST, con un puntaje de probabilidad entre e^{-3} y e^{-100} que indica una secuencia estrechamente relacionada.

Tal como se utiliza en la presente, el porcentaje de homología entre las dos secuencias de aminoácidos es equivalente al porcentaje de identidad entre las dos secuencias. El porcentaje de identidad entre dos secuencias es en función de la cantidad de posiciones idénticas que comparten las secuencias, (es decir, $\% \text{ de homología} = \frac{\text{n.º de posiciones idénticas}}{\text{n.º total de posiciones}} \times 100$), teniendo en cuenta la cantidad de espacios, y la longitud de cada espacio, que se deben introducir para el alineamiento óptimo de las dos secuencias. La comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias se puede lograr mediante el uso de un algoritmo matemático.

El porcentaje de homología entre dos secuencias de aminoácidos se puede determinar utilizando el algoritmo de E. Meyers y W. Miller (*Comput. Appl. Biosci.*, 4:11-17 (1988)) que se incorporó al programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de espacio de 12 y una penalización de espacio de 4. Además, el porcentaje de homología entre dos secuencias de aminoácidos se puede determinar utilizando el algoritmo de Needleman y Wunsch (*J. Mol. Biol.* 48:444-453 (1970)) que se ha incorporado al programa GAP en el paquete de software GCG (disponible en www.gcg.com), usando una matriz Blossum 62 o una matriz PAM250, y un peso de espacio de 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6.

Adicional o alternativamente, las secuencias de aminoácidos del tema descrito en la presente se pueden usar además como una «secuencia de consulta» para realizar una búsqueda en bases de datos públicas para, por ejemplo, identificar secuencias relacionadas. Dichas búsquedas se pueden realizar mediante el uso del programa XBLAST (versión 2.0) de Altschul, et ál. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10. Las búsquedas de proteínas BLAST se pueden realizar con el programa XBLAST, puntuación = 50 y longitud de palabra = 3 para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a las secuencias especificadas (p. ej., secuencias de región variable de cadena ligera y pesada de scFv m903, m904, m905, m906, y m900) descritas en la presente. Para obtener alineaciones con espacios

con propósitos de comparación, se puede utilizar Gapped BLAST, tal como se describe en Altschul et al., (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402. Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, pueden utilizarse los parámetros predeterminados de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST). Una «cantidad eficaz» es una cantidad suficiente para afectar un resultado clínico beneficioso o deseado tras el tratamiento. Una cantidad eficaz se puede administrar en una o más dosis. En determinadas modalidades, una cantidad eficaz puede ser una cantidad que sea suficiente para paliar, mejorar, estabilizar, revertir o retardar la progresión de la enfermedad, o reducir de otro modo las consecuencias patológicas de la enfermedad. La cantidad eficaz puede ser determinada por un médico caso por caso y está dentro de la experiencia de un experto en la técnica. Por lo general, se tienen en cuenta varios factores al determinar una dosis adecuada para lograr una cantidad eficaz. Estos factores incluyen la edad, el sexo y el peso del sujeto, la afección que se está tratando, la gravedad de la afección y la forma y la concentración efectiva de las células administradas.

Como se usa en la presente, el término «endógeno» se refiere a una molécula de ácido nucleico o polipéptido que normalmente se expresa en una célula o tejido.

Como se usa en la presente, el término «exógeno» se refiere a una molécula de ácido nucleico o polipéptido que no está endógenamente presente en una célula. Por lo tanto, el término «exógeno» abarcaría cualquier molécula de ácido nucleico recombinante o polipéptido expresado en una célula, tal como polipéptidos y moléculas de ácido nucleico extraños, heterólogos y sobreexpresados. Por ácido nucleico «exógeno» se entiende un ácido nucleico que no está presente en una célula natural de tipo salvaje; por ejemplo, un ácido nucleico exógeno puede variar de una contraparte endógena por secuencia, posición o ubicación, o ambos. Para mayor claridad, un ácido nucleico exógeno puede tener la misma secuencia o una diferente con respecto a su homólogo endógeno natural; se puede introducir mediante ingeniería genética en la propia célula o en un progenitor de esta, y se puede unir opcionalmente a secuencias de control alternativas, como un promotor no natural o una secuencia secretora.

Por «molécula de ácido nucleico heterólogo o polipéptido» se entiende una molécula de ácido nucleico (p. ej., una molécula de cDNA, DNA o RNA) o polipéptido que normalmente no está presente en una célula o muestra obtenida de una célula. Este ácido nucleico puede ser de otro organismo o puede ser, por ejemplo, una molécula de mRNA que normalmente no se expresa en una célula o muestra.

Por «modular» se entiende alterar positiva o negativamente. Los ejemplos de modulaciones incluyen cambios de alrededor del 1 %, alrededor del 2 %, alrededor del 5 %, alrededor del 10 %, alrededor del 25 %, alrededor del 50 %, alrededor del 75 % o alrededor del 100 %.

Por «aumento» se entiende alterar positivamente en al menos alrededor del 5 %. Una alteración

puede ser de alrededor del 5 %, alrededor del 10 %, alrededor del 25 %, alrededor del 30 %, alrededor del 50 %, alrededor del 75 %, alrededor del 100 % o más.

Por «reducir» se entiende alterar negativamente en al menos alrededor del 5 %. Una alteración puede ser de alrededor del 5 %, alrededor del 10 %, alrededor del 25 %, alrededor del 30 %, alrededor del 50 %, alrededor del 75 % o incluso de alrededor del 100 %.

Los términos «aislado», «purificado» o «biológicamente puro» se refieren a material que está libre en grados variables de los componentes que normalmente lo acompañan como se encuentra en su estado natural. «Aislar» denota un grado de separación del entorno o fuente original. «Purificar» denota un grado de separación superior al aislamiento. Una proteína «purificada» o «biológicamente pura» está lo suficientemente libre de otros materiales como para que cualquier impureza no afecte materialmente las propiedades biológicas de la proteína ni cause otras consecuencias adversas. Es decir, un ácido nucleico o péptido está purificado si está sustancialmente libre de material celular, material viral o medio de cultivo cuando se produce mediante técnicas de DNA recombinante, o precursores químicos u otros productos químicos cuando se sintetiza químicamente. La pureza y la homogeneidad se determinan normalmente mediante técnicas de química analítica, por ejemplo, electroforesis en gel de poliacrilamida o cromatografía líquida de alta resolución. El término «purificado» puede indicar que un ácido nucleico o una proteína dan lugar esencialmente a una banda en un gel electroforético. Para una proteína que se puede someter a modificaciones, por ejemplo, fosforilación o glucosilación, diferentes modificaciones pueden dar lugar a diferentes proteínas aisladas, que se pueden purificar por separado.

Por «célula aislada» se entiende una célula que está separada de los componentes moleculares y/o celulares que acompañan naturalmente a la célula.

La expresión «dominio de unión a antígeno» como se usa en la presente se refiere a un dominio capaz de unirse específicamente a un determinante antigénico particular o un conjunto de determinantes antigénicos presentes en una célula.

Por «receptor» se entiende un polipéptido, o una porción de este, presente en una membrana celular que se une selectivamente a uno o más ligandos.

Por «secuencia señal» o «secuencia líder» se entiende una secuencia peptídica (p. ej., 5, 10, 15, 20, 25 o 30 aminoácidos) presente en el extremo N de las proteínas recién sintetizadas que dirige su entrada a la vía secretora.

Se pretende que «comprende» y «que comprende» tengan el significado amplio que se les atribuye en la Ley de Patentes de los EE. UU. y pueden significar «incluye», «que incluye» y similares.

Tal como se usa en la presente, «tratamiento» hace referencia a una intervención clínica con la intención de alterar la evolución de la enfermedad del individuo o la célula en tratamiento y se puede

realizar con fines de profilaxis o durante la evolución de la patología clínica. Los efectos terapéuticos del tratamiento incluyen, de modo no taxativo, prevenir la aparición o reaparición de la enfermedad, el alivio de los síntomas, la disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, la prevención de metástasis, la disminución de la velocidad de progresión de la enfermedad, la mejora o paliación del estado de la enfermedad y la remisión o mejora en el pronóstico. Al prevenir la progresión de una enfermedad o trastorno, un tratamiento puede prevenir el deterioro debido a un trastorno en un sujeto afectado o diagnosticado o en un sujeto que se sospecha que padece el trastorno, pero un tratamiento puede también prevenir la aparición del trastorno o un síntoma del trastorno en un sujeto en riesgo de padecer el trastorno o que se sospecha que tiene el trastorno.

Un «individuo» o «sujeto» en la presente es un vertebrado, como un ser humano o un animal no humano, por ejemplo, un mamífero. Los mamíferos incluyen, entre otros, humanos, primates, animales de granja, animales deportivos, roedores y mascotas. Los ejemplos no limitantes de sujetos animales no humanos incluyen roedores tales como ratones, ratas, hámsteres y cobayas; conejos; perros; gatos; oveja; cerdos; cabras; ganado; caballos; y primates no humanos tales como simios y monos.

Tal como se usa en la presente, «una modificación de secuencia conservadora» hace referencia a una modificación de aminoácidos que no afecta o altera significativamente las características de unión de los receptores quiméricos que comprenden la secuencia de aminoácidos. Las modificaciones conservadoras pueden incluir sustituciones, adiciones y eliminaciones de aminoácidos. Pueden introducirse modificaciones en el dominio extracelular de unión a antígeno de los receptores quiméricos descritos mediante técnicas conocidas, tales como mutagénesis dirigida al sitio y mutagénesis mediada por PCR. Los aminoácidos se pueden clasificar en grupos de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas tales como la carga y la polaridad. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras son aquellas en las que el residuo de aminoácidos se reemplaza con un aminoácido dentro del mismo grupo. Por ejemplo, los aminoácidos se pueden clasificar por carga: los aminoácidos con carga positiva incluyen lisina, arginina, histidina, los aminoácidos con carga negativa incluyen ácido aspártico, ácido glutámico, los aminoácidos con carga neutra incluyen alanina, asparagina, cisteína, glutamina, glicina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. Además, los aminoácidos se pueden clasificar por polaridad: los aminoácidos polares incluyen arginina (polar básica), asparagina, ácido aspártico (polar ácida), ácido glutámico (polar ácida), glutamina, histidina (polar básica), lisina (polar básica), serina, treonina y tirosina; los aminoácidos no polares incluyen alanina, cisteína, glicina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, triptófano y valina. Por lo tanto, uno o más residuos de aminoácidos dentro de una región CDR se pueden reemplazar con otros residuos de aminoácidos del mismo grupo y el anticuerpo alterado se puede analizar para

determinar la función retenida (es decir, las funciones establecidas en (c) a (l) anteriormente) con los ensayos funcionales descritos en la presente. En determinadas modalidades, no se alteran más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco residuos dentro de una secuencia especificada o una región CDR.

5 Otros aspectos del tema descrito en la presente se describen en la siguiente divulgación y están dentro del ámbito del tema descrito en la presente.

5.2. **Receptores quiméricos**

En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente comprende un dominio extracelular de unión al antígeno que se une a ADGRE2 o CLEC12A. El dominio extracelular de unión a antígeno puede ser un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno de una región variable de cadena pesada (V_H) de un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno de una región variable de cadena ligera (V_L) de un anticuerpo, un fragmento variable monocatenario (scFv), un Fab o $F(ab)_2$. En ciertas modalidades, el fragmento de unión a antígeno extracelular es un fragmento variable monocatenario (scFv). En determinadas modalidades, el scFv es un scFv humanizado. En ciertas modalidades, el scFv es un scFv humanizado. En ciertas modalidades, el scFv es un scFv murino. En determinadas modalidades, el Fab está reticulado.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente es un receptor quimérico para antígeno (CAR). En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente es un receptor coestimulador quimérico (CCR). En ciertas modalidades, el receptor quimérico es una molécula de fusión de tipo TCR.

5.2.1 Receptor quimérico para antígeno (CAR)

En determinadas modalidades, el receptor quimérico es un CAR. Los CAR son receptores diseñados que se injertan o confieren una especificidad de interés en una célula efectora inmunitaria. Los CAR se pueden usar para injertar la especificidad de un anticuerpo monoclonal en un linfocito T, con transferencia de su secuencia codificante facilitada por vectores retrovirales.

Hay tres generaciones de CAR. Los CAR de primera generación normalmente están compuestos de un dominio extracelular de unión a antígeno (p. ej., un scFv), que se fusiona con un dominio transmembrana, que se fusiona con un dominio de señalización intracelular o citoplasmático. Los CAR de «primera generación» pueden proporcionar reconocimiento de antígeno *de novo* y causar la activación de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ a través de su dominio de señalización de cadena $CD3\zeta$ en una sola molécula de fusión, independientemente de la presentación de antígeno mediada por HLA. Los CAR de segunda generación agregan dominios de señalización intracelular de varias moléculas coestimuladoras (por ejemplo, CD28, 4-1BB, ICOS, OX40) a la cola citoplásmica del CAR para proporcionar señales adicionales al linfocito T. Los CAR de «segunda generación» comprenden

aquellos que proporcionan tanto coestimulación (p. ej., CD28 o 4-1BB) como activación (CD3 ζ). Los CAR de tercera generación comprenden aquellos que proporcionan coestimulación múltiple (por ejemplo, CD28 y 4-1BB) y activación (CD3 ζ). En ciertas modalidades, el receptor quimérico es un CAR de segunda generación. En determinadas modalidades, el receptor quimérico es un CAR que

5 comprende un dominio intracelular de una molécula coestimuladora o un fragmento de esta.

5.2.1.1. Dominio extracelular de unión a antígeno de un CAR

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno es un fragmento variable monocatenario (scFv). En determinadas modalidades, el scFv es un scFv humanizado. En ciertas modalidades, el scFv es un scFv humanizado. En ciertas modalidades, el scFv es un scFv

10 murino. En determinadas modalidades, el scFv se identifica examinando la biblioteca de fagos de scFv con una proteína de fusión de antígeno y Fc.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno es un Fab. En determinadas modalidades, el Fab está reticulado. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno es un F(ab)₂. Cualquiera de las moléculas anteriores puede estar comprendida en una proteína

15 de fusión con una secuencia heteróloga para formar dominio extracelular de unión al antígeno.

La unión del dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico, por ejemplo, un CAR, puede confirmarse, por ejemplo, mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), radioinmunoensayo (RIA), análisis FACS, bioensayo (por ejemplo, inhibición del crecimiento) o ensayo de inmunotransferencia. Cada uno de estos ensayos generalmente detecta la presencia de

20 complejos de proteína y anticuerpo de particular interés mediante el empleo de un reactivo marcado (p. ej., un anticuerpo o un scFv) específico para el complejo de interés. Por ejemplo, el scFv puede marcarse radiactivamente y utilizarse en un radioinmunoensayo (RIA) (véase, por ejemplo, Weintraub, B., *Principles of Radioimmunoassay, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques*, The Endocrine Society, marzo de 1986, que es incorporado mediante esta referencia en la presente). El

25 isótopo radiactivo puede detectarse por medios tales como el uso de un contador γ o un contador de centelleo o por autorradiografía. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del CAR está marcado con un marcador fluorescente. Los ejemplos no limitantes de marcadores fluorescentes incluyen proteína fluorescente verde (GFP), proteína fluorescente azul (p. ej., EBFP, EBFP2, Azurite y mKalamal), proteína fluorescente cian (p. ej., ECFP, Cerulean y CyPet) y proteína

30 fluorescente amarilla proteína (por ejemplo, YFP, Citrine, Venus e YPet).

5.2.1.2. Dominio transmembrana de un CAR

En ciertas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende una hélice alfa hidrófoba que se extiende por al menos una parte de la membrana. Diferentes dominios transmembrana dan como resultado diferente estabilidad del receptor. Después del reconocimiento del antígeno, los

receptores se agrupan y se transmite una señal a la célula. De acuerdo con el objeto de la presente descripción, el dominio transmembrana de CAR puede comprender un dominio transmembrana natural o modificado de CD8 o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de CD28 o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de CD3 ζ o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de CD4 o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de 4-1BB o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de OX40 o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de OX40 o un fragmento de este, un dominio transmembrana modificado de ICOS o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de CD84 o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de CD166 o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de CD8a o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de CD8b o un fragmento del mismo, dominio transmembrana natural o modificado de ICAM-1 o un fragmento de este, dominio transmembrana natural o modificado de CTLA-4 o un fragmento de este, dominio transmembrana natural o modificado de CD27 o un fragmento de este, un dominio transmembrana natural o modificado de CD40 o un fragmento de este, NKGD2 o un fragmento de este, o una combinación de estos.

En ciertas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD8 (p. ej., un dominio transmembrana de CD8 o un fragmento de este).

En ciertas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD8 (p. ej., un dominio transmembrana de CD8 o un fragmento de este). En determinadas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD8 (por ejemplo, un dominio transmembrana de CD8 humano o un fragmento de este). En ciertas modalidades, el polipéptido CD8 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 85 %, alrededor del 90 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos que tiene un número de referencia NCBI: NP_001139345.1 (SEQ ID NO: 7) o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de aminoácidos. En ciertas modalidades, el polipéptido CD8 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es una porción consecutiva de la SEQ ID NO: 7, que tiene una longitud de al menos alrededor de 20, o al menos alrededor de 30, o al menos alrededor de 40, o al menos alrededor de 50, al menos alrededor de 60, al menos alrededor de 70 y hasta alrededor de 235 aminoácidos. En ciertas modalidades, el polipéptido CD8 comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 235, 1 a 50, 50 a 100, 100 a 150, 150 a 200, 137 a 207 o 200 a 235 de la SEQ ID NO: 7. En ciertas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD8 que comprende o consiste en los aminoácidos

137 a 207 de la SEQ ID NO: 7. Se proporciona la SEQ ID NO: 7 a continuación.

MALPVTALLLPLALLLHAARPSQFRVSPDLRTWNLGETVELKCQVLLSNPTSGCSWLFQPRGAAASP
TFLLYLSQNKPKAAEGLDTQRFSGKRLGDTFVLTLSDFRRENEGYFCSALSNSIMYFSHFVPVFLPA
KPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY
5 CNHRNRRRVCKCPRPVVKSGDKPSLSARYV [SEQ ID NO: 7]

Un ejemplo de secuencia de nucleótidos que codifica los aminoácidos 137 a 207 de la SEQ ID NO: 7 se establece en la SEQ ID NO: 8, la que se proporciona a continuación.

Cccaccacgacgccagcgccgacgaccaccaaccccgccgcccacgatcgctgcgagcccctgtccctgcgcccagaggcgccggc
cagcgccggggggcgagtgacacgagggggctggacttcgcctgtgatatctacatctggcgcccctggccgggactgtggggctctc
10 tcctgtcactgggttatcacctttactgcaac [SEQ ID NO: 8]

En determinadas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD8 (por ejemplo, un dominio transmembrana de CD8 de ratón o un fragmento de este). En determinadas modalidades, el polipéptido CD8 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 85 %, alrededor del 90 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos con un número de referencia NCBI: AAA92533.1 (SEQ ID NO: 9) o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD8 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es una parte consecutiva de la SEQ ID NO: 9, que tiene una longitud de al menos alrededor de 20, o al menos alrededor de 30, o al menos alrededor de 40, o al menos alrededor de 50, o al menos alrededor de 60, o al menos alrededor de 70, o al menos alrededor de 100, o al menos alrededor de 200, y hasta alrededor de 247 aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD8 comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 247, 1 a 50, 50 a 100, 100 a 150, 150 a 200, 151 a 219, o 200 a 247 de la SEQ ID NO: 9. En determinadas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD8 que comprende o consiste en los aminoácidos 151 a 219 de la SEQ ID NO: 9. La SEQ ID NO: 9 se proporciona a continuación.

1 MASPLTRFLS LNLLLMGESI ILGSGEAKPQ APELRIFPKK MDAELGQKVD LVCEVLGSVS
61 QGCSWLFQNS SSKLPQPTFV VYMASSHNI TWDEKLNSSK LFSVRDTNN KYVLTNLKFS
30 121 KENEGYYFCS VISNSVMYFS SVVPVLQKVN STTTKPVLR TSPVHPTGTS QPQRPEDCRP
181 RGSVKG TGLD FACDIYIWAP LAGICVAPLL SLIITLICYH RSRKRVCKCP RPLVRQEGKP
241 RPSEKIV [SEQ ID NO: 9]

En determinadas modalidades, el dominio transmembrana de un CAR descrito en la presente comprende un polipéptido CD28 (por ejemplo, un dominio transmembrana de CD28 o un fragmento de

este).

En determinadas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD28 (por ejemplo, un dominio transmembrana de CD28 humano o un fragmento de este). En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 85 %, alrededor del 90 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o el 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos con un número de referencia NCBI: NP_006130 (SEQ ID NO: 10) o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es una parte consecutiva de la SEQ ID NO: 10, que tiene una longitud de al menos alrededor de 20, o al menos alrededor de 30, o al menos alrededor de 40, o al menos alrededor de 50 y hasta alrededor de 220 aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 220, 1 a 50, 50 a 100, 100 a 150, 150 a 200, 153 a 179, o 200 a 220 de la SEQ ID NO: 9. En determinadas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 153 a 179 de la SEQ ID NO: 10. La SEQ ID NO: 10 se presenta a continuación.

```
1 MLRLLLALNL FPSIQVTGNK ILVKQSPMLV AYDNAVNLSC KYSYNLFSRE FRASLHKGLD
61 SAVEVCVYVG NYSQQLQVYS KTGFNC DGKL GNESVTFYLQ NLYVNQTDIY FCKIEVMYPP
121 PYLDNEKSNG TIIHVKGKHL CPSPLFPGPS KPFWLVVVG GVLACYSLLV TVAFIIFWVR
20 181 SKRSRLHSD YMNMTPRRPG PTRKHYQPYA PPRDFAAYRS [SEQ ID NO: 10]
```

Un ejemplo de secuencia de nucleótidos que codifica los aminoácidos 153 a 179 de la SEQ ID NO: 10 se establece en la SEQ ID NO: 11 que se proporciona a continuación.

```
ttttgggtgctggtggtggtggtggtgagtcctggctgctatagctgtagtaacagtgccctttattttctgggtg [SEQ ID NO: 11]
```

En determinadas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD28 (por ejemplo, un dominio transmembrana de CD28 de ratón o un fragmento de este). En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 85 %, alrededor del 90 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o el 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos con un número de referencia NCBI: NP_031668.3 (SEQ ID NO: 12) o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es una parte consecutiva de la SEQ ID NO: 12, que tiene una longitud de al menos alrededor de 20, o al menos alrededor de 30, o al menos alrededor de 40, o al menos alrededor de 50 y hasta alrededor de 218 aminoácidos. En determinadas

modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 220, 1 a 50, 50 a 100, 100 a 150, 150 a 200, 151 a 177 o 200 a 218 de la SEQ ID NO: 12. En determinadas modalidades, el dominio transmembrana del CAR comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 151 a 177 de la SEQ ID NO:12. La SEQ ID NO: 12 se presenta a continuación.

5 1 MTLRLLFLAL NFFSVQVTEN KILVKQSPLL VVDSNEVSLS CRYSYNLLAK EFRASLYKGV
61 NSDVEVCVGN GNFTYQPQFR SNAEFNCDGD FDNETVTFRL WNLHVNHTDI YFCKIEFMYP
121 PPYLDNERSN GTIIHIKEKH LCHTQSSPKL FWALVVVAGV LFCYGLLVTV ALCVIWTNSR
181 RNRLQLQSDYM NMTPRRPGLT RKPYPYAPA RDFAAYRP [SEQ ID NO: 12]

10 En determinadas modalidades, el CAR comprende además una región espaciadora que une el dominio extracelular de unión a antígeno con el dominio transmembrana. La región espaciadora puede ser lo suficientemente flexible para permitir que el dominio de unión a antígeno se oriente en diferentes direcciones para facilitar el reconocimiento del antígeno mientras se preserva la actividad activadora de CAR.

15 En ciertas modalidades, la región bisagra o espaciadora del CAR comprende una región bisagra natural o modificada de CD8 o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de CD28 o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de CD3 ζ o un fragmento de esta, una región bisagra nativa o modificada de CD40 o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de 4-1BB o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de OX40 o un fragmento de esta, una región bisagra nativa o modificada de CD84 o un fragmento de esta, una región
20 bisagra natural o modificada de CD166 o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de CD8a o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de CD8b o un fragmento de esta, una bisagra natural o modificada región bisagra de ICOS o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de ICAM-1 o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de CTLA-4 o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de CD27 o un fragmento
25 de esta, una región bisagra natural o modificada de CD40 o un fragmento de esta, una región bisagra natural o modificada de NKGD2 o un fragmento de esta, un polipéptido sintético (no basado en una proteína asociada con la respuesta inmunitaria) o una combinación de estos. La región bisagra o espaciadora puede ser la región bisagra de IgG1, o la región CH₂CH₃ de inmunoglobulina y porciones de CD3, una porción de un polipéptido CD28 (p. ej., una porción de SEQ ID NO: 10 o 12), una porción
30 de un polipéptido CD8 (por ejemplo, una porción de SEQ ID NO: 7 o 9), una variación de cualquiera de los anteriores que es al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95%, o al menos alrededor del 100% homóloga o idéntica a este, o una secuencia espaciadora sintética.

En ciertas modalidades, la región espaciadora o bisagra de CAR comprende un polipéptido

CD28. En ciertas modalidades, la región espaciadora o bisagra de CAR comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 114 a 152 de la SEQ ID NO: 10.

Un ejemplo de secuencia de nucleótidos que codifica los aminoácidos 114 a 152 de la SEQ ID NO: 10 se establece en la SEQ ID NO: 13 que se proporciona a continuación.

5 attgaagtattgtatcctcctcttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcctta
ttcccgaccttctaagccc [SEQ ID NO: 13]

5.2.1.3. Dominio de señalización intracelular de un CAR

En determinadas modalidades, el CAR comprende un dominio de señalización intracelular. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende un polipéptido CD3ζ. La CD3ζ puede activar o estimular una célula (por ejemplo, una célula del linaje linfóide, por ejemplo, un linfocito T). El CD3ζ de tipo salvaje (natural) comprende tres motivos de activación basados en tirosina de inmunorreceptores funcionales (ITAM), tres regiones funcionales ricas en elementos básicos (BRS) (BRS1, BRS2 y BRS3). La CD3ζ transmite una señal de activación a la célula (por ejemplo, una célula del linaje linfóide, por ejemplo, un linfocito T) después de unirse al antígeno. El dominio de señalización intracelular de la cadena CD3ζ es el principal transmisor de señales de los TCR endógenos.

En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende un CD3ζ natural. En determinadas modalidades, el polipéptido CD3ζ natural comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 85 %, alrededor del 90 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos con un número de referencia NCBI: NP_932170 (SEQ ID NO: 14) o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD3ζ natural comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es una parte consecutiva de la SEQ ID NO: 14, que tiene una longitud de al menos alrededor de 20, o al menos alrededor de 30, o al menos alrededor de 40, o al menos alrededor de 50, al menos alrededor de 100, al menos alrededor de 110 y hasta alrededor de 164 aminoácidos. En ciertas modalidades, el polipéptido CD3ζ natural comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 164, 1 a 50, 50 a 100, 52 a 164, 100 a 150 o 150 a 164 de la SEQ ID NO: 14. En ciertas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende un polipéptido CD3ζ que comprende o consiste en los aminoácidos 52 a 164 de la SEQ ID NO: 14. La SEQ ID NO: 14 se presenta a continuación.

1 MKWKALFTAA ILQAQLPITE AQSFGLLDPK LCYLLDGILF IYGVILTALF LRVKFSRSAD
61 APAYQQGQNGQ LYNELNLGRR EEYDVLDRR GRDPEMGGKP QRRKNPQEGL YNELQKDKMA
121 EAYSEIGMKG ERRRGKGHDG LYQGLSTATK DTYDALHMQA LPPR [SEQ ID NO: 14]

En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende un polipéptido CD3ζ. En ciertas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado comprende uno, dos o tres ITAM. En ciertas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado comprende un ITAM1 natural. En determinadas modalidades, el ITAM1 natural comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 15.

QNQLYNELNLGRREEYDVLDKR [SEQ ID NO: 15]

Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 se establece en la SEQ ID NO: 16 que se proporciona a continuación.

Cagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttgacaagaga [SEQ ID NO: 16]

En ciertas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado comprende una variante de ITAM1 que comprende una o más mutaciones de pérdida de función. En ciertas modalidades, la variante de ITAM1 comprende o consiste en dos mutaciones de pérdida de función. En ciertas modalidades, cada una o más (p. ej., dos) mutaciones de pérdida de función comprende una mutación de un residuo de tirosina en ITAM1. En determinadas modalidades, la variante ITAM1 consiste en dos mutaciones de pérdida de función. En determinadas modalidades, la variante de ITAM1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 17, la que se proporciona a continuación.

QNQLFNELNLGRREEFDVLDKR [SEQ ID NO: 17]

Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 se establece en la SEQ ID NO: 18 que se proporciona a continuación.

CAGAACCAGCTCTTTAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTTCGATGTTTTGGACAAGAG A [SEQ ID NO: 18]

En determinadas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado comprende un ITAM2 natural. En determinadas modalidades, el ITAM2 natural comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 19, la que se proporciona a continuación.

QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK [SEQ ID NO: 19]

Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 se establece en la SEQ ID NO: 20 que se proporciona a continuación.

CAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGA TGAAA [SEQ ID NO: 20]

En determinadas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado comprende una variante de ITAM2. En determinadas modalidades, la variante de ITAM2 comprende o consiste en una o más mutaciones de pérdida de función. En determinadas modalidades, la variante de ITAM2 comprende o consiste en dos mutaciones de pérdida de función. En determinadas modalidades, cada una de las una o más (por ejemplo, dos) de las mutaciones de pérdida de función comprenden una mutación de un

residuo de tirosina en ITAM2. En determinadas modalidades, la variante ITAM2 consiste en dos mutaciones de pérdida de función. En determinadas modalidades, la variante de ITAM2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:21, la que se proporciona a continuación.

5 QEGLFNELQKDKMAEAFSEIGMK [SEQ ID NO: 21]

Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21 se establece en la SEQ ID NO: 22 que se proporciona a continuación.

Caggaaggcctgttcaatgaactgcagaaagataagatggcggaggccttcagtgagattgggatgaaa [SEQ ID NO: 22]

En determinadas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado comprende un ITAM3 natural.

10 En determinadas modalidades, el ITAM3 natural comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:23, la que se proporciona a continuación.

HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ [SEQ ID NO: 23]

Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23 se establece en la SEQ ID NO: 24 que se proporciona a continuación.

15 CACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGC
AG [SEQ ID NO: 24]

En determinadas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado comprende una variante de ITAM3. En determinadas modalidades, la variante de ITAM3 comprende o consiste en dos mutaciones de pérdida de función. En determinadas modalidades, cada una de las una o más (por ejemplo, dos) de las mutaciones de pérdida de función comprenden una mutación de un residuo de tirosina en ITAM3. En determinadas modalidades, la variante de ITAM3 comprende o consiste en dos mutaciones de pérdida de función. En determinadas modalidades, la variante de ITAM3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:25, la que se proporciona a continuación.

HDGLFQGLSTATKDTFDALHMQ [SEQ ID NO: 25]

25 Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 se establece en la SEQ ID NO: 26 que se proporciona a continuación.

Cacgatggcctttccaggggtctcagtacagccaccaaggacaccttcgacgcccttcacatgcag [SEQ ID NO: 26]

Varios polipéptidos CD3ζ modificados y CAR que comprenden polipéptidos CD3ζ modificados se describen en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional N.º WO2019/133969, que se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

30

En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende un polipéptido CD3ζ modificado que comprende un ITAM1 natural, una variante de ITAM2 que consiste en una o más (p. ej., dos) mutaciones de pérdida de función y una variante de ITAM3 que consiste en una o más (p. ej., dos) mutaciones de pérdida de función. En determinadas modalidades, el dominio

de señalización intracelular del CAR comprende un polipéptido CD3ζ modificado que comprende un ITAM1 natural, una variante de ITAM2 que consiste en dos mutaciones de pérdida de función y una variante de ITAM3 que consiste en dos mutaciones de pérdida de función. En ciertas modalidades, el dominio de señalización intracelular de CAR comprende un polipéptido CD3ζ modificado que comprende un ITAM1 natural que consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 15, una variante de ITAM2 que consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 21 y una variante de ITAM3 que consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 25. En ciertas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado se designa como «1XX». En ciertas modalidades, el polipéptido CD3ζ modificado comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 27. La SEQ ID NO: 27 se presenta a continuación.

RVKFSRSADA PAYQQGQNQL YNELNLGRRE EYDVLDKRRG RDPEMGGKPR RKNPQEGFLN
ELQKDKMAEA FSEIGMKGER RRGKGHDGLF QGLSTATKDT FDALHMQUALP PR [SEQ ID NO: 27]

En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende un polipéptido CD3ζ modificado que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95 %, al menos alrededor del 96 %, al menos alrededor del 97 %, al menos alrededor del 98 %, al menos alrededor del 99 % o al menos alrededor del 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 27 o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de aminoácidos.

Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27 se establece en la SEQ ID NO: 28 que se proporciona a continuación.

agagtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagag
aggagtacgatgttttgacaagagacgtggccgggaccctgagatggggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgttc
aatgaactgcagaaagataagatggcggaggccttcagtgcagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcc
tttccagggtctcagtagcagccaccaaggacaccttcgacgcccttcacatgcaggccctgccccctcgc [SEQ ID NO: 28]

En determinadas modalidades, el CAR es un CAR de segunda generación. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR también comprende al menos una región de señalización coestimuladora. En ciertas modalidades, la región de señalización coestimuladora comprende un dominio intracelular de al menos una molécula coestimuladora o un fragmento de esta.

Como se usa en el presente documento, una «molécula coestimuladora» se refiere a una molécula de superficie celular distinta del receptor para antígeno o su ligando que puede proporcionar una respuesta eficaz de los linfocitos a un antígeno. En determinadas modalidades, una molécula coestimuladora puede proporcionar una activación óptima de los linfocitos. Los ejemplos no taxativos de moléculas coestimuladoras incluyen CD28, 4-1BB, OX40, ICOS, DAP-10, CD27, CD40, RLY-1971,

NKGD2. La molécula coestimuladora puede unirse a un ligando coestimulador, que es una proteína expresada en la superficie celular que, al unirse a su receptor, produce una respuesta coestimuladora, es decir, una respuesta intracelular que efectúa la estimulación proporcionada cuando un receptor quimérico (por ejemplo, un receptor quimérico para antígeno (CAR)) se une a su antígeno diana. Como ejemplo, un ligando *4-1BB* (es decir, *4-1BBL*) puede unirse a *4-1BB* para proporcionar una señal intracelular que, en combinación con una señal CAR, induce una función de célula efectora del linfocito T CAR⁺.

En ciertas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende una región de señalización coestimuladora que comprende un polipéptido CD28, por ejemplo, un dominio intracelular de CD28 o un fragmento de este. En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95 %, al menos alrededor del 96 %, al menos alrededor del 97 %, al menos alrededor del 98 %, al menos alrededor del 99 % o al menos alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 10 o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es una parte consecutiva de la SEQ ID NO: 10, que tiene una longitud de al menos alrededor de 20, o al menos alrededor de 30, o al menos alrededor de 40, o al menos alrededor de 50 y hasta alrededor de 220 aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 220, 1 a 50, 50 a 100, 100 a 150, 114 a 220, 150 a 200, 180 a 220, o 200 a 220 de la SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende una región de señalización coestimuladora que comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 180 a 220 de la SEQ ID NO:

Un ejemplo de secuencia de ácido nucleico que codifica los aminoácidos 180 a 220 de la SEQ ID NO: 10 se establece en la SEQ ID NO: 29, la que se proporciona a continuación. Aggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggccaccgcgaagcattaccagccctat gccccaccacgcgacttcgcagcctatcgctcc [SEQ ID NO: 29]

En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95 %, al menos alrededor del 96 %, al menos alrededor del 97 %, al menos alrededor del 98 %, al menos alrededor del 99 % o al menos alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 12 o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de

aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es una parte consecutiva de la SEQ ID NO: 12, que tiene una longitud de al menos alrededor de 20, o al menos alrededor de 30, o al menos alrededor de 40, o al menos alrededor de 50 y hasta 218 aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido CD28 comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 218, 1 a 50, 50 a 100, 100 a 150, 150 a 218, 178 a 218, o 200 a 218 de la SEQ ID NO: 12. En ciertas modalidades, la región de señalización coestimuladora de un CAR actualmente descrito comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 178 a 218 de SEQ ID NO: 12.

En ciertas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende una región de señalización coestimuladora que comprende un polipéptido 4-1BB, por ejemplo, un dominio intracelular de 4-1BB o un fragmento de este (por ejemplo, un dominio intracelular de 4-1BB humano o un fragmento de este). En algunas modalidades, el polipéptido 4-1BB puede comprender o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor de 80%, al menos alrededor de 85%, al menos alrededor de 90%, al menos alrededor de 95%, al menos alrededor de 96%, al menos alrededor de 97%, al menos alrededor de 98%, al menos alrededor de 99 % o 100 % homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos con el número de referencia NCBI: No.: NP_001552 (SEQ ID NO: 30) o un fragmento de esta, y/o puede comprender opcionalmente hasta una, hasta dos o hasta tres sustituciones conservadoras de aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido 4-1BB comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es una parte consecutiva de la SEQ ID NO: 30, que tiene una longitud de al menos alrededor de 20, o al menos alrededor de 30, o al menos alrededor de 40, o al menos alrededor de 50, o al menos alrededor de 100, o al menos alrededor de 150, o al menos alrededor de 150, y hasta alrededor de 255 aminoácidos. En determinadas modalidades, el polipéptido 4-1BB comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 255, 1 a 50, 50 a 100, 100 a 150, 150 a 200, 200 a 255 o 214 a 255 de la SEQ ID NO: 30. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende una región de señalización coestimuladora que comprende un polipéptido 4-1BB que comprende o consiste en los aminoácidos 214 a 255 de la SEQ ID NO: 30. La SEQ ID NO: 30 se presenta a continuación.

```

1  MGNSCYNIVA TLLLVLNFER TRSLQDPCSN CPAGTFCDNN RNQICSPCPP NSFSSAGGQR
61  TCDICRQCKG VFRTRKECSS TSNAECDCTP GFHCLGAGCS MCEQDCKQGQ ELTKKGCKDC
121 CFGTFNDQKR GICRPWTNCS LDGKSVLVNG TKERDVVCGP SPADLSPGAS SVTPPAPARE
181 PGHSPQIISF FLALTSTALL FLLFFLTRF SVVKRGRKKL LYIFKQPFMR PVQTTQEEDG
241 CSCRFPEEEE GGCEL [SEQ ID NO: 30]

```

Un ejemplo de secuencia de ácido nucleico que codifica los aminoácidos 214 a 255 de la SEQ ID NO: 30 se establece en la SEQ ID NO: 31 que se proporciona a continuación.

aaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaacaaccatttatgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccg
atttcagaagaagaagaaggaggatgtgaactg [SEQ ID NO: 31]

En ciertas modalidades, el dominio de señalización intracelular del CAR comprende una región de señalización coestimuladora que comprende dominios intracelulares de dos o más moléculas coestimuladoras o porciones de estas, por ejemplo, un dominio intracelular de CD28 o un fragmento de este y un dominio intracelular de 4-1BB o un fragmento de este, o un dominio intracelular de CD28 o un fragmento de este y un dominio intracelular de OX40 o un fragmento de este.

5.2.2 Receptor coestimulador quimérico (CCR)

En determinadas modalidades, el receptor quimérico es un CCR. El CCR descrito actualmente se une a un antígeno (p. ej., ADGRE2 o CLEC12A) y proporciona señales coestimuladoras, pero no proporciona por sí solo una señal de activación. En ciertas modalidades, el CCR no comprende un polipéptido CD3ζ. Los CCR proporcionan coestimulación, por ejemplo, una señal de tipo CD28, en ausencia del ligando coestimulador natural en la célula presentadora de antígeno. Un reconocimiento de antígeno combinatorio, es decir, el uso de un CCR en combinación con un CAR, puede aumentar la reactividad de los linfocitos T contra los linfocitos T que expresan antígenos duales, mejorando así la orientación selectiva hacia el tumor. Kloss et ál., describen una estrategia que integra el reconocimiento combinatorio de antígenos, la señalización dividida y, de manera crítica, la fuerza equilibrada de la activación y la coestimulación de los linfocitos T para generar linfocitos T que eliminen las células diana que expresan una combinación de antígenos mientras evitan las células que expresan cada antígeno individualmente (Kloss et ál., *Nature Biotechnology* (2013); 31 (1): 71-75, cuyo contenido se incorpora por referencia en su totalidad). Con este enfoque, la activación de los linfocitos T requiere el reconocimiento de un antígeno mediado por CAR, mientras que la coestimulación está mediada de forma independiente por un CCR específico para un segundo antígeno. Para lograr la selectividad del tumor, el enfoque de reconocimiento de antígeno combinatorio disminuye la eficacia de la activación de los linfocitos T a un nivel en el que es ineficaz sin el rescate proporcionado por el reconocimiento CCR simultáneo del segundo antígeno.

En ciertas modalidades, el CCR comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que se une a un antígeno (p. ej., ADGRE2 o CLEC12A), un dominio transmembrana y una región de señalización coestimuladora que comprende un dominio intracelular de al menos una molécula coestimuladora o un fragmento de esta. En determinadas modalidades, el CCR no proporciona por sí solo una señal de activación a una célula inmunosensible. Los ejemplos no taxativos de moléculas coestimuladoras incluyen CD28, 4-1BB, OX40, ICOS, DAP-10, CD27, CD40, RLY-1971, NKGD2. En determinadas modalidades, la región de señalización coestimuladora del CCR comprende un dominio intracelular de una molécula de señalización coestimuladora o un fragmento de esta. En ciertas

modalidades, la única molécula de señalización coestimuladora es CD28. En determinadas modalidades, la molécula de señalización coestimuladora es 4-1BB. En ciertas modalidades, la región de señalización coestimuladora del CCR comprende un dominio intracelular de una primera molécula de señalización coestimuladora o un fragmento de esta y un dominio intracelular de una segunda molécula de señalización coestimuladora o un fragmento de esta. En ciertas modalidades, la primera y la segunda molécula de señalización coestimuladoras son CD28 y 4-1BB.

Similar a un CAR, el dominio extracelular de unión a antígeno del CCR puede ser un scFv, un Fab, un F(ab)₂ o una proteína de fusión con una secuencia heteróloga para formar el dominio extracelular de unión a antígeno del CCR.

5.2.3 Moléculas de fusión de tipo TCR

En ciertas modalidades, el receptor quimérico es una molécula de fusión de tipo TCR. Los ejemplos no taxativos de moléculas de fusión de TCR incluyen el receptor quimérico para antígeno basado en TCR independiente de HLA (también conocido como HIT-CAR, por ejemplo, los descritos en la solicitud de patente internacional número PCT/US19/017525, que se incorpora mediante esta referencia en su totalidad), construcciones de fusión de receptores de linfocitos T (TRuC) (por ejemplo, las descritas en Baeuerle et ál., «Synthetic TRuC receptors engagement the complete T cell receptor for potent anti-tumor response», *Nature Communications* volumen 10, número de artículo: 2087 (2019), que se incorpora mediante esta referencia en su totalidad), receptor sintético de linfocitos T y receptor de antígenos (STAR) (p. ej., los descritos en Liu et ál. *Science Translational Medicine* (2021);13(586): eabb5191, que se incorpora mediante esta referencia en su totalidad), receptor de linfocitos T de anticuerpos (AbTCR) (p. ej., los descritos en Xu et ál., *Cell Discovery* (2018) 4:62, que se incorpora mediante esta referencia en su totalidad), y acoplador de antígeno de linfocitos T (TAC) (p. ej., los descritos en Helsen et ál. *Nature Communications* (2018); 9:3049, que se incorpora mediante esta referencia en su totalidad).

En ciertas modalidades, la molécula de fusión de tipo TCR comprende una cadena de unión a antígeno que comprende un dominio extracelular de unión a antígeno y un dominio constante, en donde la molécula de fusión de tipo TCR se une a una molécula de fusión de tipo TCR que se une a un antígeno de una manera independiente de HLA. En ciertas modalidades, el dominio constante comprende una región constante del receptor de linfocitos T seleccionada del grupo que consiste en un polipéptido TRAC natural o modificado, un polipéptido TRBC natural o modificado, un polipéptido TRDC natural o modificado, un polipéptido TRGC natural o modificado y cualquier variante o fragmentos funcionales de estos. En ciertas modalidades, el dominio constante comprende un polipéptido TRAC natural o modificado. En determinadas modalidades, el dominio constante comprende un polipéptido TRBC natural o modificado. En determinadas modalidades, el dominio

constante es capaz de formar un homodímero o un heterodímero con otro dominio constante. En ciertas modalidades, la cadena de unión a antígeno se puede asociar con un polipéptido CD3 ζ . En determinadas modalidades, la cadena de unión a antígeno, al unirse a un antígeno (p. ej., ADGRE2 o CLEC12A), es capaz de activar el polipéptido CD3 ζ asociado a la cadena de unión a antígeno. En ciertas modalidades, la activación del polipéptido CD3 ζ es capaz de activar una célula inmunosensible. En ciertas modalidades, la molécula de fusión de tipo TCR es capaz de integrarse con un complejo CD3 y proporcionar reconocimiento de antígeno independiente de HLA. En ciertas modalidades, la molécula de fusión de tipo TCR reemplaza un TCR endógeno en un complejo CD3/TCR. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de la molécula de fusión de tipo TCR es capaz de dimerizarse con otro dominio extracelular de unión a antígeno. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de la molécula de fusión de tipo TCR comprende un ligando para un receptor de superficie celular, un receptor para un ligando de superficie celular, una porción de unión a antígeno de un anticuerpo o un fragmento de este, o una porción de unión a antígeno de un TCR. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de la molécula de fusión de tipo TCR comprende una o dos regiones variables de inmunoglobulina. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de la molécula de fusión de tipo TCR comprende una región variable de cadena pesada (V_H) de un anticuerpo. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de la molécula de fusión de tipo TCR comprende una región variable de cadena ligera (V_L) de un anticuerpo. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de la molécula de fusión de tipo TCR es capaz de dimerizarse con otro dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de la molécula de fusión de tipo TCR comprende una V_H de un anticuerpo, en donde un V_H se puede dimerizar con otro dominio extracelular de unión a antígeno que comprende una V_L del anticuerpo y forma un fragmento variable (Fv). En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de la molécula de fusión de tipo TCR comprende una V_L de un anticuerpo, en donde un V_L se puede dimerizar con otro dominio extracelular de unión a antígeno que comprende una V_H del anticuerpo y forma un fragmento variable (Fv).

5.3. Dominios extracelulares de unión a antígeno de receptores quiméricos dirigidos a ADGRE2

En ciertas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente se dirige a ADGRE2. En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente comprende un dominio extracelular de unión al antígeno que se une a ADGRE2.

El receptor E2 acoplado a proteína G de adhesión (ADGRE2), también conocido como EMR2, CD312, VBU o CD97, es un miembro de la familia GPCR de adhesión. Lo expresan monocitos o

macrófagos, células dendríticas y todo tipo de granulocitos. El ADGRE2 es un receptor de la superficie celular que se une al resto de sulfato de condroitina de las cadenas de glucosaminoglicanos y promueve la unión celular. Promueve la quimiotaxis, la desgranulación y la adhesión de los granulocitos. En los macrófagos, ADGRE2 promueve la liberación de citocinas inflamatorias, incluidas IL8 y TNF. Señales probablemente a través de proteínas G.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente dirigido a ADGRE2 humano. En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente comprende un dominio extracelular de unión al antígeno que se une a ADGRE2 humano. En determinadas modalidades, el ADGRE2 humano comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos con un número de referencia Uniprot: Q9UHX3-1 (SEQ ID NO: 32), o un fragmento de este. La SEQ ID NO: 32 se presenta a continuación:

```

MGGRVFLVFL AFCVWLTLPG AETQDSRGCA RWCPQDSSCV NATACRCNPG
FSSFSEIITT PMETCDDINE CATLSKVSCG KFSDCWNTG SYDCVCSPGY
EPVSGAKTFK NESENTCQDV DECQQNPRLC KSYGTCVNTL GSYTCQCLPG
FKLKPEDPKL CTDVNECTSG QNPCHSSTHC LNNVGSYQCR CRPGWQPIPG
SPNGPNNTVC EDVDECSSGQ HQCDSSTVCF NTVGSYSCRC RPGWKPRHGI
PNNQKDTVCE DMTFSTWTPP PGVHSQTLR FFDKVQDLGR DYKPGLANNT
IQSILQALDE LLEAPGDLET LPRLQQHCVA SHLLDGLEDV LRGLSKNLSN
GLLNFSYPAG TELSLEVQKQ VDRSVTLRQN QAVMQLDWNQ AQKSGDPGPS
VVGLVSIPGM GKLLAEAPLV LEPEKQMLLH ETHQGLLQDG SPILLSDVIS
AFLSNNDTQN LSSPVTFTFS HRSVIPRQKV LCVFWEHGQN GCGHWATTGC
STIGTRDTST ICRCTHLSSF AVLMAHYDVQ EEDPVLTVIT YMGLSVSLLC
LLLAALTFL CKAQNTSTS LHLQLSLCLF LAHLLFLVAI DQTGHKVLCS
IIAGTLHYLY LATLTWMLLE ALYFLTARN LTVVNYSSIN RFMKKLMFPV
GYGVPAVTVA ISAASRPHLY GTPSRCWLQP EKGFIWGFLG PVCAIFSVNL
VLFLVTLWIL KNRLSSLNSE VSTLRNTRML AFKATAQLFI LGCTWCLGIL
QVGPAARVMA YLFTIINSLQ GVFIPLVYCL LSQQVREQYG KWSKGIRKLK
TESEMHTLSS SAKADTSKPS TVN [SEQ ID NO: 32]

```

El ADGRE2 humano comprende un dominio 1 de tipo EGF, un dominio 2 de tipo EGF, un dominio 3 de tipo EGF, un dominio 4 de tipo EGF, un dominio 5 de tipo EGF y un dominio GPS. En ciertas modalidades, el dominio 1 de tipo EGF comprende o consiste en los aminoácidos 25 a 66 de la SEQ ID NO: 32. En determinadas modalidades, el dominio de tipo EGF 2 comprende o consiste en los aminoácidos 67 a 118 de la SEQ ID NO: 32. En determinadas modalidades, el dominio de tipo EGF 3 comprende o consiste en los aminoácidos 119 a 162 de la SEQ ID NO: 32. En determinadas

modalidades, el dominio de tipo EGF 4 comprende o consiste en los aminoácidos 163 a 211 de la SEQ ID NO: 32. En determinadas modalidades, el dominio de tipo EGF 5 comprende o consiste en los aminoácidos 212 a 260 de la SEQ ID NO: 32. En ciertas modalidades, el dominio GPS comprende o consiste en los aminoácidos 479 a 529 de la SEQ ID NO: 32.

5 En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente se dirige a un polipéptido ADGRE2 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor de 80 %, al menos alrededor de 85 %, al menos alrededor de 90 %, al menos alrededor de 95 %, al menos alrededor de 96 %, al menos alrededor de 97 %, al menos alrededor de 98 %, al menos alrededor de 99 % o al menos alrededor de 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida
10 en la SEQ ID NO: 32 o un fragmento de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente se une a la región del tallo de ADGRE2. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente se une al dominio GPS de ADGRE2. En determinadas modalidades, el dominio
15 extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente se une al dominio de tipo EGF 5 de ADGRE2.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un receptor quimérico para antígeno (CAR). En ciertas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 tiene la estructura descrita en la Sección 5.2.1. En determinadas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 comprende un
20 dominio extracelular de unión a antígeno que se une a ADGRE2, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un receptor coestimulador quimérico (CCR). En ciertas modalidades, el CCR dirigido a ADGRE2 tiene la estructura descrita en la Sección 5.2.2. En ciertas modalidades, el CCR dirigido a ADGRE2 comprende un dominio
25 extracelular de unión a antígeno que se une a ADGRE2, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que no proporciona una señal de activación a una célula inmunosensible, p. ej., el dominio de señalización intracelular no comprende un polipéptido CD3ζ.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es una molécula de fusión de tipo TCR. En ciertas modalidades, las moléculas de fusión de tipo TCR dirigidas a ADGRE2
30 tienen la estructura descrita en la Sección 5.2.3.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humana) con una constante de disociación (K_D) de al menos alrededor de 1×10^{-6} M, al menos alrededor de 1×10^{-7} M, al menos alrededor de 1×10^{-8} M, al menos alrededor de 1×10^{-9} M.

⁹ M o al menos alrededor de 1×10^{-10} M. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humana) con una constante de disociación (K_D) de al menos alrededor de 2×10^{-8} M. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humana) con una constante de disociación (K_D) de entre alrededor de 2×10^{-8} M y alrededor de 8×10^{-9} M.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humana) con una constante de disociación (K_D) de entre alrededor de 1 nM y alrededor de 50 nM, entre alrededor de 5 nM y alrededor de 30 nM, entre alrededor de 5 nM y alrededor de 25 nM, o entre alrededor de 8 nM y alrededor de 20 nM. En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, CD19 humano) se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humano) con una constante de disociación (K_D) de al menos alrededor de 50 nM, al menos alrededor de 40 nM, al menos alrededor de 35 nM, al menos alrededor de 30 nM, al menos alrededor de 25 nM, al menos alrededor de 20 nM, al menos alrededor de 19 nM, al menos alrededor de 18 nM, al menos alrededor de 17 nM, al menos alrededor de 16 nM, al menos alrededor de 15 nM, al menos alrededor de 14 nM, al menos alrededor de 13 nM, al menos alrededor de 12 nM, al menos alrededor de 11 nM, al menos alrededor de 10 nM, al menos alrededor de 9 nM, al menos alrededor de 8 nM, al menos alrededor de 7 nM, al menos alrededor de 6 nM, al menos alrededor de 5 nM.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un ScFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 33 a 35 se proporcionan en la Tabla 1.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

Las SEQ ID NO: 36 a 38 se proporcionan en la Tabla 1.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:39. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO:39. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:39. La

SEQ ID NO: 39 se presenta en la Tabla 1 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 40. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40. La SEQ ID NO: 40 se presenta en la Tabla 1 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 39 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 40. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 149.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C: V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:41. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a ADGRE2 como «ADGRE2-A». Un ejemplo de secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:41 se establece en la SEQ ID NO:42. Las SEQ ID NO: 41 y 42 se proporcionan en la Tabla 1. Las CDR proporcionadas en la Tabla 1 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 1 (ADGRE2-A)

CDR	1	2	3
V _H	GYTFTNYW [SEQ ID NO: 33]	VYPGDGDT [SEQ ID NO: 34]	ARGFTAYGMDY [SEQ ID NO: 35]
V _L	SSVS [SEQ ID NO: 36]	DTS [SEQ ID NO: 37]	QQWSSNPLT [SEQ ID NO: 38]
V _H completo	QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAVYP GDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAYGMDY WGQGTTVTVSS [SEQ ID NO: 39]		
V _L completo	EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSKLA SGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO: 40]		
V _H DNA completo	caagttcagctccagcagagcggcgccgaagtggcaaagcctggagcgtcagtcagctgtcctgcaaagcga gtggctatacgttcacgaactactggatgcagtgataaagcaggctcccgggcagggctggagtgattggagc cgtctaccaggggacggcgacacccggcacactcaaaagttcaagggcaaggccaccctgaccgtgacaa gagcacaagcacagcgtacatggaggtgtcctctttgagatccgaagataccgctgtgtattattgtgcccggggctt cactgcatacgggatggattactggggacaaggcactaccgtgactgtcagctcc [SEQ ID NO: 144]		
V _L DNA completo	gaaattgtgctgacacagagccctgccacaatgtctgtagccctggcgagcgcgtgaccatgtctttagcgcca gcagcagcgtgtcctacatgcattggtatcaacagaagtccggccagctctccaagcgggtgatctacgatacaag caagctggcctccggcgtgcccggcagattttctggcagcggctctggaacagattacaccttaccatctctagcat ggaacctgaggattttgccacctactattgccagcagtggtccagcaatcccctgacatttgaggaggcaccaag ctggaaattaag [SEQ ID NO: 145]		
scFv de V _H -V _L	QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAVYP GDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAYGMDY WGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSAS SSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPE DFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO: 41]		
DNA para scFv V _H -V _L	caagttcagctccagcagagcggcgccgaagtggcaaagcctggagcgtcagtcagctgtcctgcaaagcga gtggctatacgttcacgaactactggatgcagtgataaagcaggctcccgggcagggctggagtgattggagc cgtctaccaggggacggcgacacccggcacactcaaaagttcaagggcaaggccaccctgaccgtgacaa gagcacaagcacagcgtacatggaggtgtcctctttgagatccgaagataccgctgtgtattattgtgcccggggctt cactgcatacgggatggattactggggacaaggcactaccgtgactgtcagctccgggggtggaggctcaggcg ggggggggttcaggaggggggggatctgaaattgtgctgacacagagccctgccacaatgtctgtagccctggcg		

	agcgcgtgaccatgtctttagcgcgcagcagcgtgtcctacatgcattggtatcaacagaagtccggccagtct cccaagcgggtggatctacgatacaagcaagctggcctccggcgtgcccgcagattttctggcagcggctctggaa cagattacaccttcacatctctagcatggaacctgaggattttgccacctactattgccagcagtggtccagcaatcc cctgacatttggaggaggacccaagctggaaattaag [SEQ ID NO: 42]
--	---

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un ScFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 33 a 35 se proporcionan en las Tablas 1 y 2.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 36 a 38 se proporcionan en las Tablas 1 y 2.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de V_L que

comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 43. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 43. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 43. La SEQ ID NO: 43 se presenta en la Tabla 2 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 44. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 44. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 44. La SEQ ID NO: 44 se presenta en la Tabla 2 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor

quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 43 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 44. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la

5 secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 149.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión

10 a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C: V_H-V_L. En ciertas modalidades, el scFv dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 45, que se proporciona en la Tabla 2. En ciertas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a ADGRE2 como «ADGRE2-B». Las CDR

15 proporcionadas en la Tabla 2 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 2 (ADGRE2-B)

CDR	1	2	3
V _H	GYTFTNYW [SEQ ID NO: 33]	VYPGDGDT [SEQ ID NO: 34]	ARGFTAYGMDY [SEQ ID NO: 35]
V _L	SSVSY [SEQ ID NO: 36]	DTS [SEQ ID NO: 37]	QQWSSNPLT [SEQ ID NO: 38]
V _H completo	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAVYPG DGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAYGMDYW GQGTTVTVSS [SEQ ID NO: 43]		
V _L completo	EIVLTQSPATMSASPGERVTMSCSASSSVSYMHWWYQQKSGLSPKRWIYDTSKLAS GVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO: 44]		
scFv V _H -V _L	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAVYPG DGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAYGMDYW GQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERVTMSCSASSSVSYMHWWYQQKSGLSPKRWIYDTSKLASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO: 45]		

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H

que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 345 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta.

5 Las SEQ ID NO: 33 a 35 se proporcionan en las Tablas 1 a 3.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la
 10 SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 36 a 38 se proporcionan en las Tablas 1 a 3.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H
 15 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una
 20 modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico
 25 dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de V_L que
 30 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor

del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 46. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico (por ejemplo, un scFv) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 46. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 46. La SEQ ID NO: 46 se presenta en la Tabla 3 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 47. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 47. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 47. La SEQ ID NO: 47 se presenta en la Tabla 3 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 46 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 47. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 149.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C: V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 48, que se proporciona en la Tabla 3. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a ADGRE2 como «ADGRE2-C». Las CDR proporcionadas en la Tabla 3 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 3 (ADGRE2-C)

CDR	1	2	3
V_H	GYTFTNYW [SEQ ID NO: 33]	VYPGDGDT [SEQ ID NO: 34]	ARGFTAYGMDY [SEQ ID NO: 35]
V_L	SSVS [SEQ ID NO: 36]	DTS [SEQ ID NO: 37]	QQWSSNPLT [SEQ ID NO: 38]
V_H completo	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE WIGAVYPGDGDTTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDTAVY YCARGFTAYGMDYWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO: 46]		
V_L completo	EIVLTQSPATMSASPGERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWI YDTSKLGSGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNP LTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO: 47]		
scFv V_H - V_L	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE WIGAVYPGDGDTTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDTAVY YCARGFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQS PATMSASPGERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWIYDTSKLA SGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGT KLEIK [SEQ ID NO: 48]		

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un ScFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 33 a 35 se proporcionan en las Tablas 1 a 4.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 36 a 38 se proporcionan en las Tablas 1 a 4.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 49. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor

del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 49. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 49. La SEQ ID NO: 49 se presenta en la Tabla 4 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 50. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 50. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 50. La SEQ ID NO: 50 se proporciona en la Tabla 4 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 49 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 50. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C: V_H-V_L.

En determinadas modalidades, el scFv dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 51, que se proporciona en la Tabla 4. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a ADGRE2 como «ADGRE2-D». Las CDR proporcionadas en la Tabla 4 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

5 **Tabla 4 (ADGRE2-D)**

CDR	1	2	3
V _H	GYTFTNYW [SEQ ID NO: 33]	VYPGDGDT [SEQ ID NO: 34]	ARGFTAYGMDY [SEQ ID NO: 35]
V _L	SSVSY [SEQ ID NO: 36]	DTS [SEQ ID NO: 37]	QQWSSNPLT [SEQ ID NO: 38]
V _H completo	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE WMGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCARGFTAYGMDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 49]		
V _L completo	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGAPRLLIYDT SKLASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQ GTKVEIK [SEQ ID NO: 50]		
scFv V _H - V _L	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE WMGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCARGFTAYGMDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVLT QSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGAPRLLIYDTSKLA SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQG GTKVEIK [SEQ ID NO: 51]		

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un ScFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 34 a 36 se proporcionan en las Tablas 1 a 5.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la

SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 36 a 38 se proporcionan en las Tablas 1 a 5.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 5 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 52. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 52. En determinadas

modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 52. La SEQ ID NO: 52 se proporciona en la Tabla 5 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 53. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 53. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 53. La SEQ ID NO: 53 se proporciona en la Tabla 5 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 52 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 53. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C: V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 54, que se proporciona en la Tabla 5. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a ADGRE2 como «ADGRE2-E». Las CDR proporcionadas en la Tabla 5 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 5 (ADGRE2-E)

CDR	1	2	3
V _H	GYTFTNYW [SEQ ID NO: 33]	VYPGDGDT [SEQ ID NO: 34]	ARGFTAYGMDY [SEQ ID NO: 35]
V _L	SSVS [SEQ ID NO: 36]	DTS [SEQ ID NO: 37]	QQWSSNPLT [SEQ ID NO: 38]
V _H completo	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGL EWIGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 52]		
V _L completo	QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHYQQKPLSPKRWIY DTSKLASGVPDRFSGSGSGTDYFTIRLEPEDFATYYCQQWSSNPLT FGQGTKVEIK [SEQ ID NO: 53]		
scFv V _H - V _L	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGL EWIGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSQ IVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHYQQKPLSPKRWIYD TSKLASGVPDRFSGSGSGTDYFTIRLEPEDFATYYCQQWSSNPLTF GQGTKVEIK [SEQ ID NO: 54]		

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un ScFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 33 a 35 se proporcionan en la Tabla 1 a 6.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 36 a 38 se proporcionan en las Tablas 1 a 6.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H

que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 55. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 55. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 55. La SEQ ID NO: 55 se proporciona en la Tabla 6 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende

una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 56. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (,por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 56. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 56. La SEQ ID NO: 56 se proporciona en la Tabla 6 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 55 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 56. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 149.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C: V_H-V_L. En determinadas modalidades, el scFv dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 57, que se proporciona en la Tabla 6. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a ADGRE2 como «ADGRE2-F». Las CDR proporcionadas en la Tabla 6 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 6 (ADGRE2-F)

CDR	1	2	3
V _H	GYTFTNYW [SEQ ID NO: 33]	VYPGDGDT [SEQ ID NO: 34]	ARGFTAYGMDY [SEQ ID NO: 35]

V _L	SSVS [SEQ ID NO: 36]	DTS [SEQ ID NO: 37]	QQWSSNPLT [SEQ ID NO: 38]
V _H completo	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEW IGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSEDTAVYYC ARGFTAYGMDYWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO: 55]		
V _L completo	EIVLTQSPATLSASPGERVMTMSSASSSVSYMHWYQQKPLAPRRWIY DTSKLAGVGPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLT FGGGTKLEIK [SEQ ID NO: 56]		
scFv V _H -V _L	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEW IGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSEDTAVYYC ARGFTAYGMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPA TLSASPGERVMTMSSASSSVSYMHWYQQKPLAPRRWIYDTSKLAGV PDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO: 57]		

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un ScFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 33 a 35 se proporcionan en las Tablas 1 a 7.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 36 a 38 se proporcionan en las Tablas 1 a 7.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35 o una modificación conservadora de esta,

una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 146. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 146. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 146. La SEQ ID NO: 146 se proporciona en la Tabla 7 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 147. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2)

comprende una V_L comprende una secuencia de aminoácidos que es alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 147. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 147. La SEQ ID NO: 147 se proporciona en la Tabla 7 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 (por ejemplo, un scFv dirigido a ADGRE2) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 146 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 147. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 149.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C: V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 148, que se proporciona en la Tabla 7. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a ADGRE2 como «ADGRE2-G». Las CDR proporcionadas en la Tabla 7 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 7 (ADGRE2-G)

CDR	1	2	3
V_H	GYTFTNYW [SEQ ID NO: 33]	VYPGDGDT [SEQ ID NO: 34]	ARGFTAYGMDY [SEQ ID NO: 35]
V_L	SSVS [SEQ ID NO: 36]	DTS [SEQ ID NO: 37]	QQWSSNPLT [SEQ ID NO: 38]
V_H completo	QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAVYPGDGDTTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDTAVYYCA		

	RGFTAYGMDYWGGQTTVTVSS [SEQ ID NO: 146]
V _L completo	EIVLTQSPATMSASPGERVMTMSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIY DTSKLASGVPARFSGSGSGTDYFTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTF GGGTKLEIK [SEQ ID NO: 147]
scFv V _H - V _L	QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWI GAVYPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDTAVYYCA RGFTAYGMDYWGGQTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATM SASPGERVMTMSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSKLASGVPA RFSGSGSGTDYFTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO: 148]

Las secuencias de aminoácidos de V_H y/o V_L que comprenden o consisten en al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 % (por ejemplo, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 %) de homología o identidad con una secuencia específica (por ejemplo, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 146 o SEQ ID NO: 147) puede contener sustituciones (p. ej., sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones relativas a la secuencia o secuencias especificadas, pero conservan la capacidad de unirse a un antígeno diana (por ejemplo, ADGRE2). En ciertas modalidades, un total de 1 a 10 aminoácidos se sustituye, se inserta y/o se elimina en una secuencia específica (por ejemplo, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 146 o SEQ ID NO: 147). En determinadas modalidades, las sustituciones, inserciones o eliminaciones ocurren en regiones fuera de las CDR (por ejemplo, en las FR). En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende la secuencia V_H y/o V_L seleccionada de SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 146 o SEQ ID NO: 147, incluidas las modificaciones postraduccionales de esa secuencia (SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 146 o SEQ ID NO: 147).

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente compite por la unión a ADGRE2 con un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34; una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35; una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36; una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente compite para unirse a ADGRE2 con un anticuerpo de referencia o una porción de unión a antígeno de este que comprende las secuencias V_H y V_L , por ejemplo, de cualquiera de los scFv descritos actualmente (por ejemplo, ADGRE2-A, ADGRE2-B, ADGRE2-C, ADGRE2-D, ADGRE2-E, ADGRE2-F y ADGRE2-G).

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente se une a la misma o sustancialmente la misma región de epítipo en ADGRE2 con un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34; una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35; una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36; una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente se une a la misma o sustancialmente la misma región de epítipo en ADGRE2 con un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende las secuencias de V_H y V_L , por ejemplo, de cualquiera de los scFv descritos en la presente (por ejemplo, ADGRE2-A, ADGRE2-B, ADGRE2-C, ADGRE2-D, ADGRE2-E, ADGRE2-F y ADGRE2-G).

Los dominios extracelulares de unión a antígeno de los receptores quiméricos dirigidos a ADGRE2 descritos en la presente que compiten de forma cruzada o compiten con el anticuerpo de referencia o sus porciones de unión a antígeno para unirse a ADGRE2 se pueden identificar mediante el uso de métodos de rutina conocidos en la técnica, que incluyen, de modo no taxativo, ELISA, radioinmunoensayo (RIA), Biacore, citometría de flujo, inmunotransferencia y cualquier otro ensayo de

unión a anticuerpos cuantitativo o cualitativo adecuado. El ELISA de competición se describe en Morris, «Epitope Mapping of Protein Antigens by Competition ELISA», *The Protein Protocols Handbook* (1996), págs. 595-600, editado por J. Walker, que se incorpora mediante esta referencia en su totalidad. En ciertas modalidades, el ensayo de unión de anticuerpos comprende medir una unión inicial de un anticuerpo de referencia a un ADGRE2, mezclar el anticuerpo de referencia con un dominio de unión a antígeno extracelular de prueba, medir una segunda unión del anticuerpo de referencia a ADGRE2 en el presencia del dominio extracelular de unión a antígeno de prueba, y comparando la unión inicial con la segunda unión del anticuerpo de referencia, en donde una segunda unión disminuida del anticuerpo de referencia al ADGRE2 en comparación con la unión inicial indica que el dominio extracelular de unión de antígeno de prueba compite de forma cruzada con el anticuerpo de referencia para unirse a ADGRE2, por ejemplo, uno que reconoce el mismo o sustancialmente el mismo epítipo, un epítipo superpuesto o un epítipo adyacente. En determinadas modalidades, el anticuerpo de referencia se marca, por ejemplo, con un fluorocromo, biotina o peroxidasa. En ciertas modalidades, el ADGRE2 se expresa en células, por ejemplo, en un ensayo de citometría de flujo. En determinadas modalidades, el ADGRE2 se inmoviliza sobre una superficie, incluida una nave Biacore (p. ej., en una prueba Biacore) u otros medios adecuados para el análisis de resonancia de plasmones superficiales. La unión del anticuerpo de referencia en presencia de un anticuerpo completamente irrelevante (que no se une a ADGRE2) puede servir como valor alto de control. El valor bajo de control se puede obtener incubando un anticuerpo de referencia marcado con un anticuerpo de referencia no marcado, donde se producirían competencia y unión reducida del anticuerpo de referencia marcado. En determinadas modalidades, se considera que un dominio extracelular de unión a antígeno de prueba que reduce la unión del anticuerpo de referencia a ADGRE2 en al menos alrededor del 20 %, al menos alrededor del 30 %, al menos alrededor del 40 %, al menos alrededor del 50 %, al menos alrededor del 60 %, al menos alrededor del 70%, al menos alrededor del 80%, al menos alrededor del 90% o al menos alrededor del 95% es un dominio extracelular de unión a antígeno que compite con el anticuerpo de referencia para unirse a ADGRE2. En ciertas modalidades, los ensayos se realizan a temperatura ambiente.

En determinadas modalidades, el ensayo de unión a anticuerpo comprende medir una unión inicial de un dominio extracelular de unión a antígeno de prueba a ADGRE2, mezclar el dominio extracelular de unión a antígeno de prueba con un anticuerpo de referencia, medir una segunda unión del dominio extracelular de unión a antígeno de prueba a ADGRE2 en presencia del anticuerpo de referencia y comparar la unión inicial con la segunda unión del dominio extracelular de unión a antígeno de prueba, donde una segunda unión reducida del dominio extracelular de unión a antígeno de prueba a ADGRE2 en comparación con la unión inicial indica que el dominio extracelular de unión a antígeno compite con el anticuerpo de referencia por la unión a ADGRE2, por ejemplo, uno que reconoce al

mismo o sustancialmente el mismo epítopo, un epítopo con superposición o un epítopo adyacente. En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de prueba está marcado, por ejemplo, con un fluorocromo, biotina o peroxidasa. En ciertas modalidades, el ADGRE2 se expresa en células, por ejemplo, en un ensayo de citometría de flujo. En ciertas modalidades, el ADGRE2 se inmoviliza sobre una superficie, lo que incluye una nave Biacore (p. ej., en un ensayo Biacore), u otro medio adecuado para el análisis de resonancia de plasmón superficial. La unión del dominio extracelular de unión al antígeno de prueba en presencia de un anticuerpo completamente irrelevante (que no se une a ADGRE2) puede servir como valor alto de control. El valor bajo de control se puede obtener incubando un dominio extracelular de unión a antígeno de prueba marcado con un dominio extracelular de unión a antígeno de prueba no marcado, donde se producirían competencia y unión reducida del dominio extracelular de unión a antígeno de prueba marcado. En determinadas modalidades, un dominio extracelular de unión a antígeno de prueba, cuya unión a ADGRE2 se reduce en al menos alrededor del 20 %, al menos alrededor del 30 %, al menos alrededor del 40 %, al menos alrededor del 50 %, al menos alrededor del 60 %, al menos alrededor del 70 %, al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 % en presencia de un anticuerpo de referencia se considera un dominio extracelular de unión a antígeno que compite con el anticuerpo de referencia por la unión a ADGRE2. En ciertas modalidades, los ensayos se realizan a temperatura ambiente.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente comprende un enlazador que conecta la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 3. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 4. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 5. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 6. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 149.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C: V_H - V_L .

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena ligera (V_L) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_L - V_H .

Además, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 puede comprender un péptido señal o líder que dirige la proteína activa al retículo endoplasmático. En ciertas modalidades, el péptido señal o líder se ubica en (p. ej., se une covalentemente) el extremo N del dominio de extracelular unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a ADGRE2. El péptido señal o líder puede ser esencial si se va a glucosilar y anclar el receptor quimérico en la membrana celular. La secuencia señal o líder puede ser una secuencia peptídica (alrededor de 5, alrededor de 10, alrededor de 15, alrededor de 20, alrededor de 25 o alrededor de 30 aminoácidos de longitud) presente en el extremo N de las proteínas recién sintetizadas que dirige su entrada a la vía secretora. Los ejemplos no taxativos de péptidos señal o secuencias líder incluyen una secuencia señal de IL-2, una secuencia líder de CD8, una secuencia líder kappa, una secuencia líder de albúmina y una secuencia líder de prolactina. En determinadas modalidades, la secuencia de señal de IL-2 comprende o consiste en la secuencia de establecida en la SEQ ID NO. 58 o la SEQ ID NO: 59. En ciertas modalidades, la secuencia líder kappa comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO. 60 o la SEQ ID NO: 61. En determinadas modalidades, la secuencia de señal de CD8 comprende o consiste en la secuencia de establecida en la SEQ ID NO: 62 o la SEQ ID NO: 63. En determinadas modalidades, la secuencia líder de albúmina comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 64. En determinadas modalidades, la secuencia líder de prolactina comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 65. En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende un péptido señal que comprende un polipéptido CD8. En ciertas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende un péptido señal que comprende un polipéptido CD8 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 63.

MYRMQLLSIALSLALVTNS [SEQ ID NO: 58]

MYSMQLASCVTTLVLLVNS [SEQ ID NO: 59]

METPAQLLFLLLLWLPDTTG [SEQ ID NO: 60]

METDTLLLWVLLLWVPGSTG [SEQ ID NO: 61]

MALPVTALLPLALLHAARP [SEQ ID NO: 62]

MALPVTALLPLALLHA [SEQ ID NO: 63]

MKWVTFISLLFSSAYS [SEQ ID NO: 64]

MDSKGSSQKGSRLLLLLLVSNLLLCQGVVS [SEQ ID NO: 65]

5.4. *Ejemplos de receptores quiméricos dirigidos a ADGRE2*

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un CAR dirigido a ADGRE2. En ciertas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 comprende (a) un dominio extracelular de unión al antígeno que comprende (i) una V_H que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, un CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 y una V_H de CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, y (ii) una V_L que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38; (b) una región bisagra/espaciadora que comprende un polipéptido CD28, (c) un dominio transmembrana que comprende un polipéptido CD28 (por ejemplo, un dominio transmembrana de CD28 humano o un fragmento de este), y (d) un dominio de señalización intracelular que comprende (i) un polipéptido CD3ζ, y (ii) una región de señalización coestimuladora que comprende un polipéptido CD28 (por ejemplo, un dominio intracelular de CD28 humano o un fragmento de este). En determinadas modalidades, la V_H y la V_L se enlazan mediante un enlazador que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, la V_H y la V_L se posicionan desde el extremo N hasta el extremo C: V_H-V_L. En determinadas modalidades, el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 153 a 179 de la SEQ ID NO: 10. En ciertas modalidades, la región de señalización coestimuladora comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 180 a 220 de la SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, la región espaciadora o de bisagra comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 114 a 152 de la SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno y el dominio transmembrana están unidos a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 150. La SEQ ID NO: 150 se presenta a continuación. En determinadas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 66, la que se proporciona a continuación:

QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAVYPGDGDTRHTQKFK
GKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGG
GGSEIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQKSGQSPKRWIYDTSKLSGVPARFSG
SGSGTDYFTFTISSMEPEDFATYYCQWSSNPLTFGGGTKLEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHV
KGKHLCPSPFLPGPSKPFVWLVVVGGVLACYSLLVTAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPT

RKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG
KPRRKNPQEGLFNELQKDKMAEAFSEIGMKGERRRGKGHDGLFQGLSTATKDTFDALHMQALPPR
[SEQ ID NO: 66]

5 RAAA [SEQ ID NO: 150]

Un ejemplo de secuencia de ácido nucleico de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66 se establece en la SEQ ID NO: 67, la que se proporciona a continuación.

caagttcagctccagcagagcggcgccgaagtggcaaagcctggagcgtcagtcagctgtcctgcaaagcagtggtctatacgttcacga
actactggatgcagtgataaagcaggctcccgaggctggagtggtggagccgtctaccaggggacggcgacacccggcaca
10 ctcaaagttcaagggcaagggcaccctgaccgctgacaagagcacaagcacagcgtacatggagggtgcctctttgagatccgaagatac
cgctgtgtattattgtcccggggcttactgcatacgggatggattactggggacaaggcactaccgtgactgtcagctccgggggtggaggct
caggcggggggggttcaggaggggggggatctgaaattgtgtgacacagagccctgccacaatgtctgtagccctggcgagcgcgtgac
catgtctttagcgcagcagcagcgtgtcctacatgcattggtatcaacagaagtccggccagtcctccaagcgggtgatctacgatacaagc
aagctggcctccggcgtgcccggcagattttctggcagcggctctggaacagattacaccttcacatctctagcatggaacctgaggattttgc
15 cacctactattgccagcagtggtccagcaatcccctgacatttgaggaggcaccaagctggaaattaagagagcggccgcaattgaagttat
gtatcctcctcttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcacctatttccggac
cttctaagcccttttgggtgctggtggtggtggtggagtccttgctgtatagcttgctagtaacagtggtcctttattattttctgggtgaggagtaag
aggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccggggccaccgcaagcattaccagccctatgccccacca
cgcgacttcgcagcctatcgctccagagtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataac
20 gagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttgacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaagga
agaacctcaggaaggcctgttcaatgaactgcagaaagataagatggcggaggccttcagtgagattgggatgaaagggcagcgcggga
ggggcaaggggcacgatggcctttccagggtctcagtacagccaccaaggacaccttcgacgcccttcacatgcaggccctgccccctcgc
[SEQ ID NO: 67]

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 comprende un péptido
25 señal en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En ciertas modalidades, el péptido
señal comprende un polipéptido CD8 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos
establecida en la SEQ ID NO: 63.

5.5. Dominios extracelulares de unión a antígeno de receptores quiméricos dirigidos a CLEC12A

30 En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente se dirige a
CLEC12A. En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente comprende un
dominio extracelular de unión al antígeno que se une a CLEC12A.

El miembro A de la familia 12 del dominio de lectina de tipo C (CLEC12A), también conocido
como CLL-1, CLL1, DCAL-2, MICL, CD371, es una glucoproteína transmembrana de lectina de tipo C

de 30 kD. Se expresa en monocitos, granulocitos, linfocitos citolíticos naturales (NK) y basófilos. CLEC12A es un receptor inmunoinhibidor que recluta fosfatasa de homología de Src SHP-1 y SHP-2 para su motivo inhibidor basado en tirosina inmunorreceptor citoplasmático fosforilado (ITIM) (Sancho et ál., *Annu Rev. Immunol* (2012); 30: 491-529; Yan et ál., *Front Immunol* (2015);6:408; Lahoud et ál., *J Immunol* (2011);187:842). Se involucra CLEC12A como un receptor regulador negativo de cristales de ácido úrico (urato monosódico, MSU) que controla la autoinmunidad y la enfermedad inflamatoria (Neumann et ál., *Immunity* (2014); 40: 389-99). CLEC12A es un regulador negativo de la función de granulocitos y monocitos (Marshall et ál., *J Biol Chem* (2004); 279 (15): 14792-802; Pyz et ál., *Eur J Immunol* (2008); 38 (4): 1157-63).

En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente dirigido a CLEC12A humano. En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente comprende un dominio extracelular de unión al antígeno que se une a CLEC12A humano. En determinadas modalidades, el CLEC12A humano comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos con un número de referencia UniProt: Q5QGZ9-2 (SEQ ID NO: 68), o un fragmento de este. La SEQ ID NO: 68 se proporciona a continuación:

MSEEVTYADLQFQNSSEMEKIPEIGKFGEKAPPAPSHVWRPAALFLTLLCLLLIGLGVLASMFHVTLKI
EMKKMNKLQNISEELQRNLSLQLMSNMNISNKIRNLSTTLQTIATKLCRELYSKEQEHKCKPCPRRWIW
H
KDSCYFLSDDVQTWQESKMACAAQNASLLKINNKNLEFIKSQSRSDYWLGLSPEEDSTRGMRVD
NIINSSAWVIRNAPDLNNMYCGYINRLYVQYYHCTYKKRMICEKMANPVQLGSTYFREA
[SEQ ID NO: 68]

El CLEC12A humano comprende un dominio citoplasmático, un dominio transmembrana y un dominio extracelular. En ciertas modalidades, el dominio citoplasmático comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 43 de la SEQ ID NO: 68. En determinadas modalidades, el dominio transmembrana comprende o consiste en los aminoácidos 44 a 64 de SEQ ID NO: 68. En ciertas modalidades, el dominio extracelular comprende o consiste en el aminoácido 65 a 265 de la SEQ ID NO: 68.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico descrito en la presente se dirige a un polipéptido CLEC12A que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor de 80 %, al menos alrededor de 85 %, al menos alrededor de 90 %, al menos alrededor de 95 %, al menos alrededor de 96 %, al menos alrededor de 97 %, al menos alrededor de 98 %, al menos alrededor de 99 % o al menos alrededor de 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 68 o un fragmento de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente se une al dominio extracelular de CLEC12A.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un receptor quimérico para antígeno (CAR). En determinadas modalidades, el CAR dirigido a CLEC12A tiene la estructura descrita en la sección 5.2.1. En determinadas modalidades, el CAR dirigido a CLEC12A comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que se une a CLEC12A, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un receptor coestimulador quimérico (CCR). En determinadas modalidades, el CCR dirigido a CLEC12A tiene la estructura descrita en la sección 5.2.2. En determinadas modalidades, el CCR dirigido a CLEC12A comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que se une a CLEC12A, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que no proporciona una señal de activación a una célula inmunosensible, por ejemplo, el dominio de señalización intracelular no comprende un polipéptido CD3ζ.

En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A es una molécula de fusión de tipo TCR. En determinadas modalidades, las moléculas de fusión de tipo TCR dirigido a CLEC12A tienen la estructura descrita en la sección 5.2.3.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) se une a CLEC12A (por ejemplo, CLEC12A humana) con una constante de disociación (K_D) de al menos alrededor de 1×10^{-6} M, al menos alrededor de 1×10^{-7} M, al menos alrededor de 1×10^{-8} M, al menos alrededor de 1×10^{-9} M o al menos alrededor de 1×10^{-10} M. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) se une a CLEC12A (por ejemplo, CLEC12A humana) con una constante de disociación (K_D) de al menos alrededor de 2×10^{-8} M. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) se une a CLEC12A (por ejemplo, CLEC12A humana) con una constante de disociación (K_D) de entre alrededor de 2×10^{-8} M y alrededor de 8×10^{-9} M.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) se une a CLEC12A (por ejemplo, CLEC12A humana) con una constante de disociación (K_D) de entre alrededor de 1 nM y alrededor de 50 nM, entre alrededor de 5 nM y 30 nM, entre alrededor de 5 nM y alrededor de 25 nM, o entre alrededor de 8 nM y alrededor de 20 nM. En algunas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, scFv dirigido a CLEC12A) se une a CLEC12A (por ejemplo, CLEC12A humano) con una constante de disociación (K_D) de al menos alrededor de 50 nM, al menos alrededor de 40 nM, al menos alrededor de 35 nM, al menos

alrededor de 30 nM, al menos alrededor de 25 nM, al menos alrededor de 20 nM, al menos alrededor de 19 nM, al menos alrededor de 18 nM, al menos alrededor de 17 nM, al menos alrededor de 16 nM, al menos alrededor de 15 nM, al menos alrededor de 14 nM, al menos alrededor de 13 nM, al menos alrededor de 12 nM, al menos alrededor de 11 nM, al menos alrededor de 10 nM, al menos alrededor de 9 nM, al menos alrededor de 8 nM, al menos alrededor de 7 nM, al menos alrededor de 6 nM, al menos alrededor de 5 nM.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 69 a 71 se proporcionan en la Tabla 8.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 72 a 74 se proporcionan en la Tabla 8.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74 o una modificación conservadora de esta.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 de V_H que

comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71; una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72; una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 108. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75. La SEQ ID NO: 75 se proporciona en la Tabla 8 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 109. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76. La SEQ ID NO: 76

se proporciona en la Tabla 8 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a CLEC12A comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 79. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-A». Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 79 se establece en la SEQ ID NO: 80. Las SEQ ID NO: 79 y 80 se proporcionan en la Tabla 8. Las CDR proporcionadas en la Tabla 8 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 8 (CLEC12A-A)

CDR	1	2	3
V_H	GGSISSSTYY [SEQ ID NO: 69]	THYRGST [SEQ ID NO: 70]	ARELTGEVFDY [SEQ ID NO: 71]
V_L	QSISSY [SEQ ID NO: 72]	AAS [SEQ ID NO: 73]	QQSYSTPFT [SEQ ID NO: 74]
V_H completo	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSTYYWGWIRQPPRKGLE WIGSTHYRGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKVSSVTAADTAVYYC ARELTGEVFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 75]		
V_L completo	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPFTF GPGTKVDIK [SEQ ID NO: 76]		
DNA para V_H	Cagctccagctccaagagtcagggccaggtctcgtgaaaccgagtgagaccctgtccctgacctg cacagtgagtggtggatcaatctcaagctctacctactattgggggtggattcggcagccccctagaa		

completo	aggggcttgagtggattggcagcactcattatcgaggatctacctattataatccttctctgaaaagca gagttaccatctctgtggatacgtccaaaaatcagttcagctgaaggtatcatccgtgactgctgccg acacggccgtgtactattgcgcgagggagctgacaggtgaggtctttgactactggggccagggca cactcgtgaccgtgtcttct [SEQ ID NO: 77]
DNA para V _L completo	Gacatccagatgacgcagtcacctccagctgtccgcatctgtgggtgatagggtcacgattacatgt agggctagtcagagtatttctagttacctgaattggtaccagcagaaaccagggaaggcaccaaag ttgctcatctatgcggcctcctctctgcaatctggcgtgccgtccagatttagtggtcaggtccggaa ccgatttcacccttacgatctcctcacttcaacccgaggatttcgccacatattactgtcaacaaagcta ttctacaccgttcaccttcggaccggggacaaaagtggatattaaa [SEQ ID NO: 78]
scFv V _H - V _L	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSTYYWGWIRQPPRKGLE WIGSTHYRGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKVSSVTAADTAVYYC ARELTGEVFDYWGGQTLTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ SPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTK VDIK [SEQ ID NO: 79]
DNA para scFv V _H - V _L	Cagctccagctccaagagtcagggccaggtctcgtgaaaccgagtgagaccctgtccctgacctg cacagtgagtggtggatcaatctcaagctctacctactattgggggtggattcggcagccccctagaa aggggcttgagtggattggcagcactcattatcgaggatctacctattataatccttctctgaaaagca gagttaccatctctgtggatacgtccaaaaatcagttcagctgaaggtatcatccgtgactgctgccg acacggccgtgtactattgcgcgagggagctgacaggtgaggtctttgactactggggccagggca cactcgtgaccgtgtcttctgcctcaacaggaggggggtgggagtgaggcggtggatcaggggga ggagggagtgacatccagatgacgcagtcacctccagctgtccgcatctgtgggtgataggggtca cgattacatgtagggtagtcagagtatttctagttacctgaattggtaccagcagaaaccagggaag gcaccaaagttgctcatctatgcggcctcctctctgcaatctggcgtgccgtccagatttagtggtcag gctccggaaccgatttcacccttacgatctcctcacttcaacccgaggatttcgccacatattactgtca acaaagctattctacaccgttcaccttcggaccggggacaaaagtggatattaaa [SEQ ID NO: 80]

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 82 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta.

Las SEQ ID NO: 81 a 83 se proporcionan en la Tabla 9.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 84 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 73, 84 y 85 se proporcionan en la Tabla 9.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 82 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 84 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85 o una modificación conservadora de esta.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 82, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83; una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 84; una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 86. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del

81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83%, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89%, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95%, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 86. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 86. La SEQ ID NO: 86 se proporciona en la Tabla 9 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 87. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83%, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89%, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95%, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 87. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 87. La SEQ ID NO: 87 se proporciona en la Tabla 9 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 86 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 87. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor

quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a CLEC12A comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 88, que se proporciona en la Tabla 9. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-B». Las CDR proporcionadas en la Tabla 9 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 9 (CLEC12A-B)

CDR	1	2	3
V_H	GGISTYY [SEQ ID NO: 81]	IYYSGST [SEQ ID NO: 82]	AREDDYGGSGSPFDY [SEQ ID NO: 83]
V_L	QGIRYD [SEQ ID NO: 84]	AAS [SEQ ID NO: 73]	LQDYNFPRT [SEQ ID NO: 85]
V_H completo	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTKYNPSLKSRTISVDTSKNLFSKLSSVTAADTAVYYCARE DYYGSGSPFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 86]		
V_L completo	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRYDLGWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQDYNFPRTF GQGTKVEIK [SEQ ID NO: 87]		
scFv V_H - V_L	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTKYNPSLKSRTISVDTSKNLFSKLSSVTAADTAVYYCARE DYYGSGSPFDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSAIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRYDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQDYNFPRTFGQGTK VEIK [SEQ ID NO: 88]		

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 91 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 89 a 91 se proporcionan en la Tabla 10.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 92 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la

SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 94 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 92 a 94 se proporcionan en la Tabla 10.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígenos del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 91 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 92 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 94 o una modificación conservadora de esta.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 91; una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 92; una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 94.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 95. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 95. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_H que

comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 95. La SEQ ID NO: 95 se proporciona en la Tabla 10 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 96. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 96. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 96. La SEQ ID NO: 96 se proporciona en la Tabla 10 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 96 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 96. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a CLEC12A comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 97, la que se proporciona en la Tabla 10. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-C». Las CDR proporcionadas en la Tabla 10 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 10 (CLEC12A-C)

CDR	1	2	3
V _H	GFTFSSYG [SEQ ID NO: 89]	ISYDGSDK [SEQ ID NO: 90]	ARDKGYFDY [SEQ ID NO: 91]
V _L	QSVGNRY [SEQ ID NO: 92]	GAS [SEQ ID NO: 93]	QQDYNLPLT [SEQ ID NO: 94]
V _H completo	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSDKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLHMNSLRAEDTAVY YCARDKGYFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 95]		
V _L completo	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGNRYLSWYQQKPGQAPRLL IYGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLPLT FGGGTKVEIK [SEQ ID NO: 96]		
scFv V _H - V _L	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSDKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLHMNSLRAEDTAVY YCARDKGYFDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVMT QSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGNRYLSWYQQKPGQAPRLLIYGAS TRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLPLTFGGG TKVEIK [SEQ ID NO: 97]		

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 98 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 89, 90 y 98 se proporcionan en la Tabla 11.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 99 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 151 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 93, 99 y 151 se proporcionan en la Tabla 11.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H

que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 98 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 99 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 151 o una modificación conservadora de esta.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 98; una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 99; una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 151.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 100. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 100. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 100. La SEQ ID NO: 100 se proporciona en la Tabla 11 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L

comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 101. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 101. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 101. La SEQ ID NO: 101 se proporciona en la Tabla 11 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 100 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 101. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a CLEC12A comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 102, que se proporciona en la Tabla 11. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-D». Las CDR proporcionadas en la Tabla 11 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 11 (CLEC12A-D)

CDR	1	2	3
V_H	GFTFSSYG [SEQ ID NO: 89]	ISYDGSDK [SEQ ID NO: 90]	ARDGSRFYFDY [SEQ ID NO: 98]

V _L	QSVHSKY [SEQ ID NO: 99]	GAS [SEQ ID NO: 93]	QQDYNLPIT [SEQ ID NO: 151]
V _H completo	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSDKYSADSVKGRFNISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGSRYFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 100]		
V _L completo	EIFMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVHSKYLSWYQQKPGQAPSLLI YGASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLPITF GQGTRLEIK [SEQ ID NO: 101]		
scFv V _H - V _L	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSDKYSADSVKGRFNISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGSRYFDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIFMT QSPATLSLSPGERATLSCRASQSVHSKYLSWYQQKPGQAPSLLIY GAS TRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLPITFGQG TRLEIK [SEQ ID NO: 102]		

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 81, 83 y 103 se proporcionan en la Tabla 12.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 104 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 105 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 73, 104 y 105 se proporcionan en la Tabla 12.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la

secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 104 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 105 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 81, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 104, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 105.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 106. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 106. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 106. La SEQ ID NO: 106 se proporciona en la Tabla 12 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 107. Por ejemplo, el dominio extracelular

de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 107. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 107. La SEQ ID NO: 107 se proporciona en la Tabla 12 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 106 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 107. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a CLEC12A comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 108, que se proporciona en la Tabla 12. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-E». Las CDR proporcionadas en la Tabla 12 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 12 (CLEC12A-E)

CDR	1	2	3
V_H	GGSISTYY [SEQ ID NO: 81]	IYFSGST [SEQ ID NO: 103]	AREDYYGSGSPFDY [SEQ ID NO: 83]
V_L	QGIRND [SEQ ID NO: 104]	AAS [SEQ ID NO: 73]	LQDYNYPRT [SEQ ID NO: 105]
V_H	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISTYYWSWIRQPPGKGLEWL		

completo	GYIYFSGSTNYNPSLKSRLTISVAASKSQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE DYYGSGSPFDYWGGQGLTVTVSS [SEQ ID NO: 106]
V _L completo	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWFQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTYFTLTISLQPEDSATYYCLQDYNYPRTF GQGTKVEIK [SEQ ID NO: 107]
scFv V _H - V _L	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTYYWSWIRQPPGKGLEWL GYIYFSGSTNYNPSLKSRLTISVAASKSQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE DYYGSGSPFDYWGGQGLTVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSAIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWFQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTYFTLTISLQPEDSATYYCLQDYNYPRTFGQGTK VEIK [SEQ ID NO: 108]

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 109 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 83, 103 y 109 se proporcionan en la Tabla 13.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 110 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 73, 85 y 110 se proporcionan en la Tabla 13.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 109 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 110 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende

la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 109, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 103, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 83, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 110, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 85.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 111. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 111. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 111. La SEQ ID NO: 111 se proporciona en la Tabla 13 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 112. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %,

alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 112. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 112. La SEQ ID NO: 112 se proporciona en la Tabla 13 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 111 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 112. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L . En determinadas modalidades, el scFv dirigido a CLEC12A comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 113, que se proporciona en la Tabla 13. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-F». Las CDR proporcionadas en la Tabla 13 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 13 (CLEC12A-F)

CDR	1	2	3
V_H	GGISTDY [SEQ ID NO: 109]	IYFSGST [SEQ ID NO: 103]	AREYYGSGSPFDY [SEQ ID NO: 83]
V_L	QDIRND [SEQ ID NO: 110]	AAS [SEQ ID NO: 73]	LQDYNFPRT [SEQ ID NO: 85]
V_H completo	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTDYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYFSGSTKYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR EDYYGSGSPFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 111]		
V_L completo	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNDLGWFQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQDYNFPRTF		

	GQGTKVEIK [SEQ ID NO: 112]
scFv V _H - V _L	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISTDYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYFSGSTKYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR EDYYGSGSPFDYWGGQGLTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSAIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNDLGWFQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCLQDYNFPRTFGQGT KVEIK [SEQ ID NO: 113]

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 114 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 89, 90 y 114 se proporcionan en la Tabla 14.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 115 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 116 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 93, 115 y 116 se proporcionan en la Tabla 14.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 114 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 115 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 116 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que

comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 89, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 90, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 114, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 115, una CDR2 de V_L que
 5 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 93 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 116.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos
 10 alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 117. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos
 15 alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o
 20 alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 117. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 117. La SEQ ID NO: 117 se proporciona en la Tabla 14 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos
 25 alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 118. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos
 30 alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o
 alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 118. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una

V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 118. La SEQ ID NO: 118 se proporciona en la Tabla 14 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 117 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 118. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L .

En determinadas modalidades, el scFv dirigido a CLEC12A comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 119, que se proporciona en la Tabla 14. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-G». Las CDR proporcionadas en la Tabla 14 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 14 (CLEC12A-G)

CDR	1	2	3
V_H	GFTFSSYG [SEQ ID NO: 89]	ISYDGS DK [SEQ ID NO: 90]	ARDGQFYFDY [SEQ ID NO: 114]
V_L	QSVTSRY [SEQ ID NO: 115]	GAS [SEQ ID NO: 93]	QQDYNLPLT [SEQ ID NO: 116]
V_H completo	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGEGLE WVTVISYDGS DKYYADSVKGRFTISRDN SKSTLFLQMNSLRAEDTAVYY CARDGQFYFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 117]		
V_L completo	EIVMTQSPATLSLSPGESATLS CRASQSVTSRYLSWYQQKPGQAPRLL MYGASTRPTGIPARFSGSGSGTDFLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLPL TFGGGTKVEIK [SEQ ID NO: 118]		
scFv V_H - V_L	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGEGLE WVTVISYDGS DKYYADSVKGRFTISRDN SKSTLFLQMNSLRAEDTAVYY CARDGQFYFDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQ		

	SPATLSLSPGESATLSCRASQSVTSRYLSWYQQKPGQAPRLLMYGAS TRPTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLPLTFGGG TKVEIK [SEQ ID NO: 119]
--	--

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 120 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 121 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 122 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 120 a 122 se proporcionan en la Tabla 15.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 123 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 124 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 125 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 123-125 se proporcionan en la Tabla 15.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 120 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 121 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 122 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 123 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 124 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 125 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 120, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 121, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 122, una CDR1 de V_L que

comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 123, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 124 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 125.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico (por ejemplo, un scFv) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 126. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico (por ejemplo, un scFv) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos
 5 alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o
 10 alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 126. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 126. La SEQ ID NO: 126 se proporciona en la Tabla 15 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico (por ejemplo, un scFv) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 127. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico (por ejemplo, un scFv) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos
 20 alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o
 25 alrededor del 100 % idéntica u homóloga a la SEQ ID NO: 127. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 127. La SEQ ID NO: 127 se proporciona en la Tabla 15 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 126 y una V_L que comprende

la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 127. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

- 5 En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L .
- 10 En determinadas modalidades, el scFv dirigido a CLEC12A comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 128, que se proporciona en la Tabla 15. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-H». Las CDR proporcionadas en la Tabla 15 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 15 (CLEC12A-H)

CDR	1	2	3
V_H	GFTFSNYG [SEQ ID NO: 120]	ISYDGSDK [SEQ ID NO: 121]	ARDSGRYFFDY [SEQ ID NO: 122]
V_L	QSVSSRS [SEQ ID NO: 123]	GPS [SEQ ID NO: 124]	HQDYNLPLT [SEQ ID NO: 125]
V_H completo	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSDKSYKDSVKGRFTIARDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDSGRYFFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 126]		
V_L completo	EIIMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSRSLSWYQHKGPGQAPRLLI YGPSTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCHQDYNLPLT FGGGTKVEIK [SEQ ID NO: 127]		
scFv V_H - V_L	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSDKSYKDSVKGRFTIARDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDSGRYFFDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIIM TQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSRSLSWYQHKGPGQAPRLLIYGP STRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCHQDYNLPLTFGG GTKVEIK [SEQ ID NO: 128]		

- 15 En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 129 o una modificación

conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 130 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 131 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 129 a 131 se proporcionan en la Tabla 16.

5 En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 132 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 133 o una modificación conservadora de esta, y una CDR3 de V_L que comprende la
10 secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 134 o una modificación conservadora de esta. Las SEQ ID NO: 132-134 se proporcionan en la Tabla 16.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 129 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 130 o una modificación conservadora de esta, una CDR3 de V_H que comprende la
15 secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 131 o una modificación conservadora de esta, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 132 o una modificación conservadora de esta, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 133 o una modificación conservadora, y una CDR3 de V_L que comprende
20 la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 134 o una modificación conservadora de esta.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una CDR1 de V_H que
25 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 129, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 130, una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 131, una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 132, una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 133 y una CDR3 de V_L que
30 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 134.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica

a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 135. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 135. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 135. La SEQ ID NO: 135 se proporciona en la Tabla 16 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 % (por ejemplo, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 %) homóloga o idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 136. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos alrededor del 80 %, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 %, alrededor del 99 % o alrededor del 100 % homóloga o idéntica a la SEQ ID NO: 136. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 136. La SEQ ID NO: 136 se proporciona en la Tabla 16 a continuación.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A (por ejemplo, un scFv dirigido a CLEC12A) comprende una de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 135 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 136. En ciertas modalidades, V_H y V_L están enlazados a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:149. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos que establecida en la SEQ ID NO:2.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a

antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L .

- 5 En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 137, la que se proporciona en la Tabla 16. En determinadas modalidades, se hace referencia al scFv dirigido a CLEC12A como «CLEC12A-J». Las CDR proporcionadas en la Tabla 16 se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

Tabla 16 (CLEC12A-J)

CDR	1	2	3
V_H	GFTFSKYG [SEQ ID NO: 129]	IWYDGSIK [SEQ ID NO: 130]	ARGSLWFGEFYFDY [SEQ ID NO: 131]
V_L	QGISSA [SEQ ID NO: 132]	DAS [SEQ ID NO: 133]	QQFNYPRT [SEQ ID NO: 134]
V_H completo	QVKLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSKYGMHWVRQAPGKGLE WVAFIWYDGSIKNYADSVKGRFTTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGSLWFGEFYFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO: 135]		
V_L completo	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQGISSALAWYQQKPGKTPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNYPRTF GQGTEKVEIK [SEQ ID NO: 136]		
scFv V_H - V_L	QVKLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSKYGMHWVRQAPGKGLE WVAFIWYDGSIKNYADSVKGRFTTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGSLWFGEFYFDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGS AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQGISSALAWYQQKPGKTPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNYPRTF GQGTEKVEIK [SEQ ID NO: 137]		

10

Las secuencias de aminoácidos de V_H y/o V_L tienen al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 % o al menos alrededor del 95 % (por ejemplo, alrededor del 81 %, alrededor del 82 %, alrededor del 83 %, alrededor del 84 %, alrededor del 85 %, alrededor del 86 %, alrededor del 87 %, alrededor del 88 %, alrededor del 89 %, alrededor del 90 %, alrededor del 91 %, alrededor del 92 %, alrededor del 93 %, alrededor del 94 %, alrededor del 95 %, alrededor del 96 %, alrededor del 97 %, alrededor del 98 % o alrededor del 99 %) de homología o identidad con una secuencia específica (por ejemplo, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76,

15

SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 135 o SEQ ID NO: 136) puede contener sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones con respecto a la

5 secuencia o secuencias especificadas, pero mantienen la capacidad de unirse a un antígeno diana (por ejemplo, CLEC12A). En ciertas modalidades, un total de 1 a 10 aminoácidos se sustituye, se inserta y/o se elimina en una secuencia específica (por ejemplo, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID

10 NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 135 o SEQ ID NO: 136). En determinadas modalidades, las sustituciones, inserciones o eliminaciones ocurren en regiones fuera de las CDR (por ejemplo, en las FR). En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno comprende la secuencia V_H y/o V_L seleccionada de SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID

15 NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 135 o SEQ ID NO: 136, incluidas las modificaciones postraduccionales de esa secuencia (SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 135 o SEQ

20 ID NO: 136).

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente compite de forma cruzada para unirse a CLEC12A con un anticuerpo de referencia o un fragmento de unión a antígeno de este que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de V_H y las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de V_L, por ejemplo, de

25 cualquiera de los scFv descritos en la presente (por ejemplo, CLEC12A-A, CLEC12A-B, CLEC12A-C, CLEC12A-D, CLEC12A-E, CLEC12A-F, CLEC12A-G, CLEC12A-H y CLEC12A-J). En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico descrito en la presente compite por la unión a CLEC12A con un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende las secuencias de V_H y V_L, por ejemplo, de cualquiera de los scFv

30 descritos en la presente (por ejemplo, CLEC12A-A, CLEC12A-B, CLEC12A-C, CLEC12A-D, CLEC12A-E, CLEC12A-F, CLEC12A-G, CLEC12A-H y CLEC12A-J).

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente compite de forma cruzada para unirse a CLEC12A con un anticuerpo de referencia o una porción de unión a antígeno de este que comprende las secuencias

CDR1, CDR2 y CDR3 de V_H y las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de V_L de scFv de CLEC12A-A. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente compite por la unión a CLEC12A con un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70; una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71; una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72; una CDR2 de V_L que comprende los aminoácidos con la secuencia establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 de V_L que comprende los aminoácidos con la secuencia establecida en la SEQ ID NO: 74. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente compite por la unión a CLEC12A con un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende las secuencias de V_H y V_L de scFv CLEC12A-A. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente compite por la unión a CLEC12A con un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75 y un V_L que comprende los aminoácidos con la secuencia establecida en la SEQ ID NO: 76.

En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de los receptores quiméricos dirigidos a CLEC12A descritos en la presente se une al mismo epítipo en CLEC12A que el anticuerpo de referencia o su porción de unión a antígeno. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente se une al mismo epítipo en CLEC12A que un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de V_H y las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de V_L , por ejemplo, de cualquiera de los scFv descritos en la presente (por ejemplo, CLEC12A-A, CLEC12A-B, CLEC12A-C, CLEC12A-D, CLEC12A-E, CLEC12A-F, CLEC12A-G, CLEC12A-H y CLEC12A-J). En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A se une al mismo epítipo descrito en CLEC12A que un anticuerpo de referencia o una parte de unión a antígeno de este que comprende las secuencias de V_H y V_L , por ejemplo, de cualquiera de los scFv descritos en la presente (por ejemplo, CLEC12A-A, CLEC12A-B, CLEC12A-C, CLEC12A-D, CLEC12A-E, CLEC12A-F, CLEC12A-G, CLEC12A-H y CLEC12A-J).

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente se une al mismo epítipo en CLEC12A que un anticuerpo de referencia o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de V_H y las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de V_L de scFv CLEC12A-A.

Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente se une al mismo epítipo en CLEC12A que un anticuerpo de referencia o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende una CDR1 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69; una CDR2 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70; una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71; una CDR1 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72; una CDR2 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 74. En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente se une al mismo o sustancialmente el mismo epítipo en CLEC12A que un anticuerpo de referencia o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende las secuencias de V_H y V_L de scFv CLEC12A-A. Por ejemplo, el dominio extracelular de unión a antígeno de un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente se une al mismo epítipo en CLEC12A que un anticuerpo de referencia o un fragmento de unión al antígeno de este que comprende una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 75 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 76.

Los dominios extracelulares de unión a antígeno de los receptores quiméricos dirigidos a CLEC12A descritos en la presente que compiten de forma cruzada o compiten con el anticuerpo de referencia o sus porciones de unión a antígeno para unirse a CLEC12A se pueden identificar mediante el uso de métodos de rutina conocidos en la técnica, por ejemplo, los descritos en la Sección 5.3.

En determinadas modalidades, el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente comprende un enlazador que conecta la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 1. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 3. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 4. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 5. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 6. En determinadas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 149.

En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a

antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena pesada (V_H) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_H - V_L .

5 En determinadas modalidades, las regiones variables en el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A se deben enlazar una tras otra, de forma tal que una región variable de cadena ligera (V_L) se ubique en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno. En determinadas modalidades, si el dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un scFv, las regiones variables se ubican del extremo N al C. V_L - V_H .

10 Además, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A puede comprender un péptido señal o líder que dirige la proteína activa al retículo endoplasmático. En determinadas modalidades, el péptido señal o líder se ubica (por ejemplo, mediante unión covalente) en el extremo N del dominio extracelular de unión a antígeno del receptor quimérico dirigido a CLEC12A. En ciertas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende un péptido señal o líder descrito en la Sección 5.3. En
15 determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende un péptido señal que comprende un polipéptido CD8. En ciertas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A comprende un péptido señal que comprende un polipéptido CD8 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 63.

5.6. Ejemplo de receptor quimérico dirigido a CLEC12A

20 En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12A es un CCR. En ciertas modalidades, el CCR dirigido a CLEC12A comprende (a) un dominio extracelular de unión a antígeno que comprende (i) un V_H que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en
25 la SEQ ID NO: 71, y (ii) un V_L que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 74; (b) un dominio intracelular que comprende un polipéptido 4-1BB (p. ej., un polipéptido 4-1BB humano, p. ej., un dominio intracelular de 4-1BB (p. ej., 4-1BB humano) o una porción de este).
30 En ciertas modalidades, el CCR dirigido a CLEC12A comprende además un dominio transmembrana que comprende un polipéptido CD8 (p. ej., un polipéptido CD8 humano, p. ej., un dominio transmembrana de CD8 (p. ej., CD8 humano) o una porción de este). En ciertas modalidades, el dominio intracelular comprende un polipéptido 4-1BB que comprende o consiste en los aminoácidos 214 a 255 de la SEQ ID NO: 30. En ciertas modalidades, el dominio transmembrana comprende un

polipéptido CD8 que comprende o consiste en los aminoácidos 137 a 207 de la SEQ ID NO: 7. En ciertas modalidades, V_H y V_L están unidos a través de un enlazador que comprende o consiste en de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 149. En determinadas modalidades, las V_H y V_L se ubican del extremo N al C: V_H - V_L . En ciertas modalidades, el dominio extracelular de unión al antígeno y el dominio transmembrana están unidos a través de un enlazador. En determinadas modalidades, el enlazador consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:150. En ciertas modalidades, el CCR dirigido a CLEC12A comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:138 que se proporciona a continuación:

QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSTYYWGWIRQPPRKGLEWIGSTHYRGSTYYNPSLKS
 RVTISVDTSKNQFSLKVSSVTAADTAVYYCARELTGEVFDYWGQGLTVTVSSASTGGGGSGGGGSG
 GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG
 SSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKRAAAPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ
 TTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL [SEQ ID NO: 138]

Un ejemplo de secuencia de ácidos nucleicos es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 138 se establece en la SEQ ID NO: 139 que se proporciona a continuación.

cagctccagctccaagagtcagggccaggtctcgtgaaaccgagtgagaccctgtccctgacctgcacagtgagtggtggatcaatctcaag
 ctctacctactattgggggtgattcggcagccccctagaaaggggcttgagtggattggcagcactcattatcgaggatctacctattataatcct
 tctctgaaaagcagagttaccatctctgtggatacgtccaaaaatcagttcagctgaaggtatcatccgtgactgctgccgacacggccgtgta
 ctattgcgcgagggagctgacaggtgaggtcttgactactggggccagggcacactcgtgaccgtgtcttctgcctcaacaggaggggggtg
 gagtggagggcggtggatcagggggaggaggaggagtgacatccagatgacgcagtccttccagcttgctccgcatctgtgggtgatagggtca
 cgattacatgtagggctagtcagagttattctagttacctgaattggtaccagcagaaaccagggaaggcaccaaagttgctcatctatgcggcc
 tcctctctgcaatctggcgtgccgtccagatttagtgatcaggtccggaaccgatttcacccttacgatctcctcactcaacccgaggatttcgc
 cacatattactgtcaaaaagctattctacaccgttcaccttcggaccggggacaaaagtgatattaacggggcgccgccccaccacga
 cgccagcgccgagaccaccaaccccgcgccacgatcgcgtgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcgggcggg
 gggcgagtgacacagagggggctggacttcgctgtgatatctacatctggcgcccctggccgggactgtggggctcttctctgtcactgg
 ttatcacccttactgcaaaaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaacaaccatttatgagaccagtacaaactactcaagagga
 agatggctgtagctgccgattccagaagaagaaggaggatgtgaactg [SEQ ID NO: 139]

En determinadas modalidades, el receptor quiméricos dirigido a CLEC12A comprende un péptido señal en el extremo N del domino extracelular de unión a antígeno. En ciertas modalidades, el péptido señal comprende un polipéptido CD8 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 63.

5.7. Células

El objetivo descrito en la presente proporciona células que comprenden un receptor quimérico

dirigido a ADGRE2 descrito en la presente (por ejemplo, uno descrito en las secciones 5.3 y 5.4). Además, el objetivo descrito en la presente proporciona células que comprenden un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente (por ejemplo, uno descrito en las secciones 5.5 y 5.6).

En ciertas modalidades, la célula se selecciona del grupo que consiste en células de linaje linfóide y células de linaje mieloide. En determinadas modalidades, la célula es una célula inmunosensible. En ciertas modalidades, la célula inmunosensible es una célula de linaje linfóide.

En ciertas modalidades, la célula es una célula del linaje linfóide. Las células del linaje linfóide pueden proporcionar producción de anticuerpos, regulación del sistema inmunitario celular, detección de agentes extraños en la sangre, detección de células extrañas al hospedador y similares. Los ejemplos no taxativos de células del linaje linfóide incluyen linfocitos T, linfocitos citolíticos naturales (NK), linfocitos B, células dendríticas, células madre a partir de las cuales se pueden diferenciar células linfoides. En ciertas modalidades, la célula madre es una célula madre pluripotente. En determinadas modalidades, la célula madre pluripotente es una célula madre embrionaria (ESC) o una célula madre pluripotente inducida (iPSC).

En determinadas modalidades, la célula es un linfocito T. Los linfocitos T pueden ser linfocitos que maduran en el timo y son principalmente responsables de la inmunidad mediada por células. Los linfocitos T están involucrados en el sistema inmunológico adaptativo. Los linfocitos T del objeto de la presente descripción pueden ser cualquier tipo de linfocitos T, incluidos, entre otros, linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T de memoria (incluidos los linfocitos T de memoria central, linfocitos T de memoria similares a células madre y dos tipos de linfocitos T de memoria efectores, por ejemplo, linfocitos TEM y linfocitos TEMRA, linfocitos T reguladores (también conocidos como linfocitos T supresores), linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), linfocitos T citolíticos naturales, linfocitos T invariantes asociados a la mucosa y linfocitos T $\gamma\delta$. Los linfocitos T citotóxicos (CTL o linfocitos T citolíticos) son un subconjunto de linfocitos T capaces de inducir la muerte de células tumorales o somáticas infectadas. Los propios linfocitos T de un paciente se pueden modificar genéticamente para atacar antígenos específicos mediante la introducción de un receptor quimérico, por ejemplo, un CAR o un CCR. En determinadas modalidades, la célula inmunosensible es un linfocito T. El linfocito T puede ser un linfocito T CD4⁺ o un linfocito T CD8⁺. En determinadas modalidades, el linfocito T es un linfocito T CD4⁺. En determinadas modalidades, el linfocito T es un linfocito T CD8⁺.

En determinadas modalidades, la célula es un linfocito NK. Los linfocitos citolíticos naturales (NK) pueden ser linfocitos que forman parte de la inmunidad mediada por células y actúan durante la respuesta inmunitaria innata. Los linfocitos NK no requieren activación previa para ejercer su efecto citotóxico sobre las células diana. En determinadas modalidades, la célula es un linfocito NK modificado genéticamente. En determinadas modalidades, la célula es un linfocito NK editado. En determinadas

modalidades, la célula es un linfocito NK derivado de una célula madre. En determinadas modalidades, la célula es un linfocito NK derivado de una célula madre pluripotente. En ciertas modalidades, la célula es un linfocito NK derivado de una célula madre pluripotente inducida (iPSC).

Los tipos de linfocitos humanos del objeto de la presente incluyen, de modo no taxativo, linfocitos de donantes periféricos. por ejemplo, los descritos en Sadelain et ál., *Nat Rev Cancer* (2003); 3:35-45 (que describe linfocitos de donantes periféricos genéticamente modificados para expresar CAR), en Morgan, RA, et ál. 2006 *Science* 314:126-129 (que describe linfocitos de donantes periféricos modificados genéticamente para expresar un complejo receptor de linfocitos T que reconoce antígenos tumorales de longitud completa que comprende el heterodímero α y β), en Panelli et ál., *J Immunol* (2000);164 :495-504; Panelli et ál., *J Immunol* (2000); 164: 4382-4392 (que describen cultivos de linfocitos derivados de linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) en biopsias de tumores), y en Dupont et ál., *Cancer Res* (2005); 65: 5417- 5427; Papanicolaou et ál., *Blood* (2003); 102:2498-2505 (que describe selectivamente leucocitos de sangre periférica específicos de antígeno expandidos *in vitro* empleando células presentadoras de antígeno artificiales (AAPC) o células dendríticas pulsadas).

Las células (p. ej., linfocitos T o linfocitos NK) pueden ser autólogas, no autólogas (p. ej., alogénicas) o derivadas *in vitro* de células madre o progenitoras manipuladas.

Las células del objeto de la presente invención pueden ser células del linaje mieloide. Los ejemplos no taxativos de células del linaje mieloide incluyen monocitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, megacariocitos, mastocitos, eritrocitos, trombocitos y células madre a partir de las cuales se pueden diferenciar las células mieloides. En determinadas modalidades, la célula madre es una célula madre pluripotente (por ejemplo, una célula madre embrionaria o una célula madre pluripotente inducida).

En determinadas modalidades, las células descritas en la presente son capaces de modular el microentorno tumoral. Los tumores tienen un microambiente que es hostil a la respuesta inmunitaria del hospedador que implica una serie de mecanismos por parte de las células malignas para protegerse del reconocimiento y la eliminación inmunitarios. Este «microentorno tumoral hostil» comprende una variedad de factores inmunosupresores que incluyen linfocitos T CD4⁺ reguladores infiltrantes (Treg), células supresoras derivadas de mieloides (MDSC), macrófagos asociados a tumores (TAM), citocinas inmunosupresoras, incluido TGF- β , y expresión de ligandos dirigidos a receptores inmunosupresores expresados por linfocitos T activados (CTLA-4 y PD-1). Estos mecanismos de supresión inmunitaria desempeñan una función en el mantenimiento de la tolerancia y la supresión de las respuestas inmunitarias inapropiadas; sin embargo, dentro del microentorno tumoral, estos mecanismos impiden una respuesta inmunitaria antitumoral eficaz. Colectivamente, estos factores inmunosupresores pueden inducir apoptosis o anergia marcada de linfocitos T modificados transferidos adoptivamente al

encontrarse con células tumorales diana.

En ciertas modalidades, las células pueden transducirse con el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y/o el receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente de manera que las células expresen los receptores quiméricos.

5 Además, el objeto descrito en la presente proporciona células que comprenden un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente (por ejemplo, uno descrito en la Sección 5.3) y un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente (por ejemplo, uno descrito en la Sección 5.4). En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 es un CAR. En determinadas modalidades, el receptor quimérico dirigido a CLEC12 es un CCR. Por lo tanto, en ciertas
10 modalidades, el objeto actualmente divulgado proporciona células que comprenden un CAR dirigido a CLEC12A divulgado actualmente y un CCR dirigido a CLEC12A divulgado actualmente.

En ciertas modalidades, las células descritas en la presente exhiben un mayor grado de actividad citolítica frente a las células que son positivas tanto para ADGRE2 como para CLEC12A en comparación con las células que son positivas individualmente para ADGRE2. En ciertas modalidades,
15 el CAR dirigido a ADGRE2 se une al ADGRE2 con una afinidad de unión baja o una avidez de unión baja. En ciertas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 se une a ADGRE2 en un epítipo de baja accesibilidad. En determinadas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 se une a ADGRE2 con una afinidad de unión que es menor en comparación con la afinidad de unión con la cual el CCR dirigido a CLEC12A se une a CLEC12A. En determinadas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 se une a
20 ADGRE2 con una afinidad de unión que es al menos 5 veces menor en comparación con la afinidad de unión con la cual el CCR dirigido a CLEC12A se une a CLEC12A. En ciertas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 se une a ADGRE2 con una afinidad de unión que es al menos 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces, 200 veces, 5000 veces, 1000 veces, 5000 veces o 10 000 veces menor en comparación con la afinidad de unión con la
25 que el CCR dirigido a CLEC12A se une a CLEC12A.

5.5.1. Ejemplos de células

En ciertas modalidades, la célula comprende un CAR dirigido a ADGRE2 y un CCR dirigido a CLEC12A.

En ciertas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 comprende (a) un dominio extracelular de
30 unión al antígeno que comprende (i) una V_H que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 33, un CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 34 y una V_H de CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 35, y (ii) una V_L que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 36, una CDR2 que comprende la secuencia

de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 37, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 38; (b) una región bisagra/espaciadora que comprende un polipéptido CD28, (c) un dominio transmembrana que comprende un polipéptido CD28 (por ejemplo, un dominio transmembrana de CD28 humano o un fragmento de este), y (d) un dominio de señalización intracelular que comprende (i) un polipéptido CD3 ζ , y (ii) una región de señalización coestimuladora que comprende un polipéptido CD28 (por ejemplo, un dominio intracelular de CD28 humano o un fragmento de este). En determinadas modalidades, la V_H y la V_L se enlazan mediante un enlazador que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, la V_H y la V_L se posicionan desde el extremo N hasta el extremo C: V_H-V_L.

En determinadas modalidades, el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 153 a 179 de la SEQ ID NO: 10. En ciertas modalidades, la región de señalización coestimuladora comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 180 a 220 de la SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, la región espaciadora o de bisagra comprende un polipéptido CD28 que comprende o consiste en los aminoácidos 114 a 152 de la SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, el CAR dirigido a ADGRE2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:66.

En ciertas modalidades, el CCR dirigido a CLEC12A comprende (a) un dominio extracelular de unión a antígeno que comprende (i) un V_H que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 69, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 70 y una CDR3 de V_H que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 71, y (ii) un V_L que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 72, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 73 y una CDR3 de V_L que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 74; (b) un dominio intracelular que comprende un polipéptido 4-1BB (p. ej., un polipéptido 4-1BB humano, p. ej., un dominio intracelular de 4-1BB (p. ej., 4-1BB humano) o una porción de este). En ciertas modalidades, el CCR dirigido a CLEC12A comprende además un dominio transmembrana que comprende un polipéptido CD8 (p. ej., un polipéptido CD8 humano, p. ej., un dominio transmembrana de CD8 (p. ej., CD8 humano) o una porción de este). En ciertas modalidades, el dominio intracelular comprende un polipéptido 4-1BB que comprende o consiste en los aminoácidos 214 a 255 de la SEQ ID NO: 30. En determinadas modalidades, el dominio transmembrana comprende un polipéptido CD8 que comprende o consiste en los aminoácidos 137 a 207 de la SEQ ID NO: 7. En determinadas modalidades, las V_H y V_L se enlazan a través de un enlazador que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, las V_H y V_L se ubican del extremo N al C: V_H-V_L. En determinadas

modalidades, el CCR dirigido a CLEC12A comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 136.

5.8. Modificaciones genéticas, vector y moléculas de ácido nucleico

El objetivo descrito en la presente proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican el receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente (por ejemplo, los descritos en las secciones 5.3 y 5.4). En determinadas modalidades, la molécula de ácido nucleico también comprende un promotor enlazado de forma operativa al CAR dirigido a ADGRE2 descrito en la presente. También se proporcionan células que comprenden dichas moléculas de ácido nucleico.

Además, el objetivo descrito en la presente proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican el receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente (por ejemplo, los descritos en las secciones 5.5 y 5.6). En determinadas modalidades, la molécula de ácido nucleico también comprende un promotor enlazado de forma operativa al CAR dirigido a CLEC12A descrito en la presente. También se proporcionan células que comprenden dichas moléculas de ácido nucleico.

Además, el objeto descrito en la presente proporciona composiciones de ácido nucleico que comprenden una molécula de ácido nucleico que codifica un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 y una molécula de ácido nucleico que codifica un receptor quimérico dirigido a CLEC12A. También se proporcionan células que comprenden dichas composiciones de ácido nucleico.

En ciertas modalidades, el promotor es endógeno o exógeno. En determinadas modalidades, el promotor exógeno se selecciona del grupo que consiste en un promotor del factor de elongación (EF) 1, un promotor de citomegalovirus (CMV) temprano inmediato, un promotor temprano del virus del simio 40 (SV40), un promotor de la fosforilacetato cinasa (PGK), un promotor de metalotioneína y un promotor de ubiquitina C. En determinadas modalidades, el promotor endógeno se selecciona de un promotor alfa de TCR, un promotor beta de TCR, y un promotor de beta 2-microglobulina. En determinadas modalidades, el promotor es un promotor inducible. En determinadas modalidades, el promotor inducible se selecciona del grupo que consiste en un promotor de elemento de respuesta transcripcional (TRE) NFAT, un promotor de CD69, un promotor de CD25, un promotor de IL-2, un promotor de 4-1BB, un promotor de PD1 y un promotor de LAG3.

El objeto de la presente invención también proporciona vectores que comprenden las moléculas de ácido nucleico de la presente invención. En determinadas modalidades, el vector es un vector viral. En determinadas modalidades, el vector viral es un vector retroviral. En determinadas modalidades, el vector retroviral es un vector gammaretroviral o un vector lentiviral.

En ciertas modalidades, el vector comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un CAR dirigido a ADGRE2 actualmente divulgado y un CCR dirigido a CLEC12A divulgado actualmente. En ciertas modalidades, la molécula de ácido nucleico codifica un polipéptido que comprende la

secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 140. En ciertas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 141. Las SEQ ID NO: 140 y 141 se proporcionan a continuación.

5 MALPVTALLLPLALLLHAQVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGGGLEWIG
AVYPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAYGMDYWGQGT
VSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRW
IYDTSKLGASVPAFSGSGSGTDYFTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIKRAAAIEVM
YPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL
10 LHSYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE
YDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLFNEQLQDKMAEAFSEIGMKGERRRGKGHDLFQGLSTA
TKDTFDALHMQUALPPRSGGATNFSLLKQAGDVEENPGPMALPVTALLLPLALLLHAQLQLQESGPGL
VKPSETLSLTCTVSGGSISSSTYYWGWIRQPPRKGLEWIGSTHYRGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQ
FSLKVSSVTAADTAVYYCARELTGEVFDYWGQGLTVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQS
PSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
15 SLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKRAAAPTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG
GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR
FPEEEEGGCEL [SEQ ID NO: 140]

20 GGATTAGTCCAATTTGTAAAGACAGGATATCAGTGGTCCAGGCTCTAGTTTTGACTCAACAATAT
CACCAGCTGAAGCCTATAGAGTACGAGCCATAGATAAAATAAAAGATTTTATTTAGTCTCCAGAAA
AAGGGGGGAATGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAA
GGCATGGAAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTCAGGAACAGATGGAACAG
CTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCGGGCTCAGGGCCAAAGAAC
AGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCGGGCTCA
25 GGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGA
TGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTC
GCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCAC
TCGGGGCGCCAGTCCTCCGATTGACTGAGTCGCCCCGGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCCTCTT
GCAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCTTGGGAGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACC
30 CGTCAGCGGGGGTCTTTCACATGCAGCATGTATCAAAATTAATTTGGTTTTTTTTCTTAAGTATTTA
CATTAAATGGCCATAGTACTTAAAGTTACATTGGCTTCCTTGAAATAAACATGGAGTATTCAGAAT
GTGTCATAAATATTTCTAATTTTAAGATAGTATCTCCATTGGCTTTCTACTTTTTCTTTATTTTTTTT
TGTCCTCTGTCTTCCATTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTAATTTT
TTTTTAAAGATCCTACACTATAGTTCAAGCTAGACTATTAGCTACTCTGTAACCCAGGGTGACCTT

GAAGTCATGGGTAGCCTGCTGTTTTAGCCTTCCCACATCTAAGATTACAGGTATGAGCTATCATT
 TTGGTATATTGATTGATTGATTGATTGATGTGTGTGTGTGTGATTGTGTTTGTGTGTGTGATTGTGT
 ATATGTGTGTATGGTTGTGTGTGATTGTGTGTATGTATGTTTGTGTGTGATTGTGTGTGTGTGATT
 GTGCATGTGTGTGTGTGTGATTGTGTTTATGTGTATGATTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
 5 GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTTGTGTATATATATTTATGGTAGTGAGAGGCAACGCTCCGGCTCAG
 GTGTCAGGTTGTTTTTGAGACAGAGTCTTTCAGTTAGCTTGGAATTCAGTGGCCGTCGTTTTACA
 ACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGACGACATCCCCCTTTCG
 CCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGA
 ATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATA
 10 TGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAA
 CACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGAC
 CGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAG
 GGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGT
 GGCATTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTTAAATACATTCAAATATGT
 15 ATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGCC
 ATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGGGTAT
 AAATGGGCTCGCGATAATGTGCGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCG
 ATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATG
 GTCAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTACTCCT
 20 GATGATGCATGGTTACTCACCCTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATA
 TCCTGATTGAGGTGAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTCGATTC
 CTGTTTGTAATTGTCCTTTTAACAGCGATCGCGTATTTCTGCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGA
 ATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGTATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTC
 TGGAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCATCATGGTGATTTCTCA
 25 CTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATC
 GCAGACCGATACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACA
 GAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATG
 CTCGATGAGTTTTTCTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTC
 ATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAATCCCTTAACG
 30 TGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTT
 TTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTCG
 CGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAAT
 ACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATA
 CCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGG

TTGGA CTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGC
 ACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAG
 AAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAA
 CAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTGGGTT
 5 TCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAAA
 AACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTT
 TCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTC
 GCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATA
 CGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCCG
 10 ACTGGAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCA
 GGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACAC
 AGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTTTGCTCTTAGGAGTTTCCTAATACATCCCAAAC
 TCAAATATATAAAGCATTGACTTGTTCTATGCCCTAGGGGGCGGGGGGAAGCTAAGCCAGCTTT
 TTTTAACATTTAAAATGTTAATTCCATTTTAAATGCACAGATGTTTTTATTTTATAAGGGTTTCAATG
 15 TGCATGAATGCTGCAATATTCCTGTTACCAAAGCTAGTATAAATAAAAATAGATAAACGTGGAAAT
 TACTTAGAGTTTCTGTCTTAACGTTTCTTCCCTCAGTTGACAACATAAATGCGCTGCTGAGAAGC
 CAGTTTGCATCTGTCAGGATCAATTTCCCATTTATGCCAGTCATATTAATTACTAGTCAATTAGTTGA
 TTTTTATTTTTGACATATACATGTGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAAC
 GCCATTTTGCAAGGCATGGAAAAATACATAACTGAGAATAGAAAAGTTCAGATCAAGGTCAGGAA
 20 CAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTC
 AGGGCCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCC
 TGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAG
 AGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTA
 ACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCC
 25 ACAACCCCTCACTCGGCGCGCCAGTCCTCCGATTGACTGAGTCGCCCCGGGTACCCGTGTATCCA
 ATAAACCCTCTTGCAAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCCCTTGGGAGGGTCTCCTCTGAG
 TGATTGACTACCCGTCAGCGGGGGTCTTTCAATTTGGGGGCTCGTCCGGGATCGGGAGACCCCTG
 CCCAGGGACCAACGACCCACCAACCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGA
 TTGTCTAGTGTCTATGACTGATTTTATGCGCCTGCGTCGGTACTAGTTAGCTAACTAGCTCTGTAT
 30 CTGGCGGACCCGTGGTGGAAGTACGAGTTCGGAACACCCGGCCGCAACCCTGGGAGACGTCC
 CAGGGACTTCGGGGGCGGTTTTTGTGGCCCGACCTGAGTCCTAAAATCCCGATCGTTTAGGACT
 CTTTGGTGCACCCCCCTTAGAGGAGGGATATGTGGTTCTGGTAGGAGACGAGAACCTAAAACAG
 TTCCCGCCTCCGTCTGAATTTTTGCTTTCGGTTTGGGACCGAAGCCGCGCCGCGCGTCTTGTCT
 GCTGCAGCATCGTTCTGTGTTGTCTCTGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATATGGGCC

CGGGCTAGACTGTTACCACTCCCTTAAGTTTGACCTTAGGTCACTGGAAAGATGTCGAGCGGATC
GCTCACAACCAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACCTTCTGCTCTGCAGAATGGC
CAACCTTTAACGTCGGATGGCCGCGAGACGGCACCTTTAACCGAGACCTCATCACCCAGGTTAA
GATCAAGGTCTTTTACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACCAGGTCCCCTACATCGTGACCTGG
5 GAAGCCTTGGCTTTTGACCCCCCTCCCTGGGTCAAGCCCTTTGTACACCCTAAGCCTCCGCCTC
CTCTTCCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCCCTTGAACCTCCTCGTTTCGACCCCGCCTCGATCCTCC
CTTTATCCAGCCCTCACTCCTTCTCTAGGCGCCCCCATATGGCCATATGAGATCTTATATGGGGC
ACCCCGCCCCCTTGTAACTTCCCTGACCCTGACATGACAAGAGTTACTAACAGCCCCCTCTCTCC
AAGCTCACTTACAGGCTCTCTACTTAGTCCAGCACGAAGTCTGGAGACCTCTGGCGGCAGCCTA
10 CCAAGAACAACCTGGACCGACCGGTGGTACCTCACCTTACCGAGTCGGCGACACAGTGTGGGTC
CGCCGACACCAGACTAAGAACCTAGAACCTCGCTGGAAAGGACCTTACACAGTCCTGCTGACCA
CCCCACCGCCCTCAAAGTAGACGGCATCGCAGCTTGGATACACGCCGCCACGTGAAGGCTG
CCGACCCCGGGGGTGGACCATCCTCTAGACTGCCatggctctcccagtgactgcctactgctcccctagcgcttcc
tgcatgcacaagttcagctccagcagagcggcgccgaagtggcaaagcctggagcgtcagtaagctgtcctgcaaagcgagtggtatac
15 gttcacgaactactggatgcagtgataaagcaggctcccgggcagggctggagtggtggagccgtctaccaggggacggcgacacc
cggcacactcaaaagttcaagggcaaggccaccctgaccgctgacaagagcacaagcagcgtacatggaggtgctctttgagatccg
aagataccgctgtgtattattgtgccccgggcttactgcatacgggatggattactggggacaaggcactaccgtgactgtcagctccgggggt
ggaggtcaggcgggggggggtcaggaggggggggatctgaaattgtgtgacacagagccctgccacaatgtctgtagccctggcgagc
gcgtgaccatgtctttagcgccagcagcagcgtgtcctacatgcattggatcaacagaagtcggccagctctccaagcgggtgatctacga
20 tacaagcaagctggcctccggcgtgcccgcagattttctggcagcggctctggaacagattacaccttcaccatctctagcatggaacctgag
gattttgccactactattgccagcagtggtccagcaatcccctgacatttgaggaggccaccaagctggaaattaagagagcggccgcaatt
gaagttatgtatcctcctcttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctattt
cccgaccttctaagcccttttgggtgctggtggtggtggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtgcccttatttttctgggtgag
gagtaagaggagcaggctctgcacagtactacatgaacatgactccccgccgccccggggccaccgcaagcattaccagccctatgc
25 cccaccacgcgacttcgcagcctatcgctccagagtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgcgtaccagcagggccagaaccagc
tctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttgacaagagacgtggccgggaccctgagatggggggaaagccga
gaaggaagaaccctcaggaaggcctgttcaatgaactgcagaaagataagatggcggaggccttcagttagattgggatgaaaggcgag
cgccggagggggcaaggggcacgatggccttttcaggggtcagtaacagccaccaaggacaccttcgacgcccttcacatgcaggccctgc
ccctcgcggaagcggagctactaacttcagcctgtctgaagcaggctggagacgtggaggagaaccctggacccatggccctgcccgtcac
30 cgctttgcttctgccactggcctgtgtctccacgctcagctccagctccaagagtcaggggccaggctctgtgaaaccgagtgagaccctgtccc
tgacctgcacagttagtggtgatcaatctcaagctctacctactattgggggtgattcggcagccccctagaaaggggcttgagtggtggc
agcactcattatcgaggatctacctattataatccttctctgaaaagcagagttaccatctctgtggatacgtccaaaaatcagttcagctgaaggt
atcatccgtgactgtgccgacacggcgtgtactattgcgcgagggagctgacaggtgaggtcttgactactggggccagggcacactcgt
gaccgtgtcttctgcctcaacaggaggggggtgggagtgaggcggtggatcagggggaggagggagtgacatccagatgacgcagctcccc

ttccagctgtccgcatctgtgggtgatagggcacgattacatgtagggctagtcagagtatttctagttacctgaattggtaccagcagaaacca
 ggcaaggcaccaaagttgctcatctatgcggcctcctctctgcaatctggcgtgccgtccagatttagtggtacaggctccggaaccgattcac
 ccttacgatctcctcacttcaacccgaggatttcgccacatattactgtcaacaaagctattctacaccgttcaccttcggaccggggacaaaagt
 ggatattaaacggggcgccgccccaccacgacgccagcgccgcgaccaccaaccccgcgcccacgatcgcgtcgcagcccctgtccc
 5 tgcgcccagaggcgtgccggccagcgggggggcgagtcacacgaggggggctggacttcgcctgtgatattctacatctgggcgcccct
 ggccgggacttgtggggctctctctgtcactgggtatcaccttactgcaacaaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaacaacc
 atttatgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttcagaagaagaagaaggaggatgtgaactgtaaCA
 GCCACTCGAGGATCC [SEQ ID NO: 141]

Las moléculas de ácido nucleico se pueden administrar las células por métodos conocidos en
 10 la técnica o como se describe en este documento. La modificación genética de una célula puede
 lograrse mediante la transducción de una composición celular sustancialmente homogénea con una
 construcción de DNA recombinante. En ciertas modalidades, se emplea un vector retroviral (por
 ejemplo, un vector gammaretroviral o un vector lentiviral) para introducir la construcción de DNA en la
 célula. Por ejemplo, un polinucleótido que codifica un receptor quimérico descrito en la presente se
 15 puede clonar en un vector retroviral y la expresión puede derivarse de su promotor endógeno, de la
 repetición terminal larga retroviral o de un promotor específico para un tipo de célula objetivo de interés.
 También se pueden utilizar vectores no virales.

Para la modificación genética inicial de una célula a fin de incluir al menos un receptor quimérico
 descrito en la presente (por ejemplo, dos receptores quiméricos descritos en la presente, por ejemplo,
 20 un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y un receptor quimérico dirigido a
 CLEC12A descrito en la presente), se puede emplear un vector retroviral para la transducción, sin
 embargo, se puede utilizar cualquier otro vector viral adecuado o sistema de administración no viral. El
 receptor o receptores quiméricos pueden construirse en un único casete de expresión multicistrónico,
 en varios casetes de expresión de un solo vector o en múltiples vectores. Algunos ejemplos de
 25 elementos que crean casetes de expresión policítrica incluyen, entre otros, varios sitios de entrada de
 ribosomas internos virales y no virales (IRES, p. ej., IRES FGF-1, IRES FGF-2, IRES VEGF, IRES IGF-
 II, IRES NF- κ B, IRES RUNX1, IRES p53, IRES hepatitis A, IRES hepatitis C, IRES pestivirus, IRES
 aftovirus, IRES picornavirus, IRES poliovirus y IRES virus de encefalomiocarditis) y enlaces escindibles
 (p. ej., péptidos 2A, por ejemplo, P2A, T2A, E2A y F2A). En algunas modalidades, el péptido P2A
 30 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:142 que se
 proporciona a continuación:

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP [SEQ ID NO: 142]

Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la
 SEQ ID NO: 142 se establece en 143, que se proporciona a continuación:

ggaagcggagctactaacttcagcctgctgaagcaggctggagacgtggaggagaaccctggaccc [SEQ ID NO: 143]

También son adecuadas combinaciones de vector retroviral y una línea de envasado apropiada, donde las proteínas de la cápside serán funcionales para infectar células humanas. Se conocen varias líneas celulares productoras de virus anfótrofos, incluidas, entre otras, PA12 (Miller *et ál.*, (1985), *Mol Cell Biol* (1985); 5:431-437); PA317 (Miller., *et ál.*, *Mol Cell Biol* (1986); 6:2895-2902); y CRIP (Danos *et ál.*, *Proc Natl Acad Sci USA* (1988);85:6460-6464). Las partículas no anfotrópicas también son adecuadas, por ejemplo, partículas pseudotipadas con envoltura VSVG, RD114 o GALV y cualquier otra conocida en la técnica.

Los posibles métodos de transducción también incluyen el cocultivo directo de las células con células productoras (Bregni *et ál.*, *Blood* (1992);80:1418-1422), o el cultivo con sobrenadante viral solo o con vectores concentrados con o sin factores de crecimiento y policaciones apropiados (Xu *et ál.*, *Exp Hemat* (1994); 22:223-230; y Hughes *et ál.* *J Clin Invest* (1992); 89:1817).

Para modificar una célula se pueden utilizar otros vectores virales transductores. En determinadas modalidades, el vector seleccionado presenta una eficacia elevada de infección y una integración y expresión estables (ver, por ejemplo, Cayouette *et ál.*, *Human Gene Therapy* 8:423-430, 1997; Kido *et ál.*, *Current Eye Research* 15:833-844, 1996; Bloomer *et ál.*, *Journal of Virology* 71:6641-6649, 1997; Naldini *et ál.*, *Science* 272:263-267, 1996; y Miyoshi *et ál.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94:10319, 1997). Otros vectores virales que pueden utilizarse incluyen, por ejemplo, los vectores virales adenovirales, lentivirales y adenoasociados, el virus vaccinia, el virus del papiloma bovino o el virus del herpes, como el virus de Epstein-Barr (véanse también, por ejemplo, los vectores de Miller, *Human Gene Thera* (1990);15-14; Friedman, *Science* 244:1275-1281, 1989; Eglitis *et ál.*, *BioTechniques* (1988);6:608-614; Tolstoshev *et ál.*, *Cur Opin Biotechnol* (1990); 1:55-61; Sharp, *The Lancet* (1991);337:1277-78; Cornetta *et ál.*, *Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 36:311-22, 1987; Anderson, *Science* (1984);226:401-409; Moen, *Blood Cells* 17:407-16, 1991; Miller *et ál.*, *Biotechnol* (1989);7:980-90; LeGal La Salle *et ál.*, *Science* (1993);259:988-90; y Johnson, *Chest* (1995)107:77S-83S). Los vectores retrovirales están particularmente bien desarrollados y se han utilizado en entornos clínicos (Rosenberg *et ál.*, *N Engl J Med* (1990); 323:370, 1990; Anderson *et ál.*, patente estadounidense N.º 5 399 346).

También se pueden emplear métodos no virales para la modificación genética de una célula. Por ejemplo, una molécula de ácido nucleico puede introducirse en una célula administrando el ácido nucleico en presencia de lipofección (Feigner *et ál.*, *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* (1987);84:7413; Ono *et ál.*, *Neurosci Lett* (1990);17:259; Brigham *et ál.*, *Am J Med Sci* (1989);298:278; Staubinger *et ál.*, *Methods in Enzymol* (1983);101:512, Wu *et ál.*, *J Biol Chem* (1988);263:14621; Wu *et ál.*, *J Biol Chem* (1989);264:16985), o mediante microinyección en condiciones quirúrgicas (Wolff *et ál.*, *Science*

(1990);247:1465). Otros medios no virales para la transferencia de genes incluyen transfección *in vitro* mediante el uso de fosfato de calcio, dextrano DEAE, electroporación y fusión de protoplastos. Los liposomas también pueden ser potencialmente beneficiosos para el suministro de DNA en una célula. El trasplante de genes normales en los tejidos afectados de un sujeto también se puede lograr mediante la transferencia de un ácido nucleico normal a un tipo celular cultivable *ex vivo* (p. ej., una célula primaria autóloga o heteróloga o su progenie), después de lo cual se inyecta la célula (o sus descendientes) en un tejido diana o se inyecta sistémicamente. Los receptores recombinantes también se pueden derivar u obtener utilizando transposasas o nucleasas diana (por ejemplo, nucleasas con dedo de cinc, meganucleasas o TALEN, CRISPR). La expresión transitoria se puede obtener por electroporación del RNA.

Se pueden usar cualesquiera métodos de edición del genoma dirigidos para administrar al menos un receptor quimérico descrito en la presente (por ejemplo, dos receptores quiméricos descritos en la presente, por ejemplo, un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente) a una célula. En determinadas modalidades, se usa un sistema CRISPR para administrar al menos un receptor quimérico descrito en la presente (por ejemplo, dos receptores quiméricos descritos en la presente, por ejemplo, un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente). En determinadas modalidades, se usan nucleasas de dedos de cinc para administrar al menos un receptor quimérico descrito en la presente (por ejemplo, dos receptores quiméricos descritos en la presente, por ejemplo, un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente). En determinadas modalidades, se usa un sistema TALEN para administrar al menos un receptor quimérico descrito en la presente (por ejemplo, dos receptores quiméricos descritos en la presente, por ejemplo, un receptor quimérico dirigido a ADGRE2 descrito en la presente y un receptor quimérico dirigido a CLEC12A descrito en la presente).

El sistema de repetición palindrómica corta agrupada regularmente interespaciada (CRISPR) es una herramienta de edición del genoma descubierta en las células procariotas. Cuando se utiliza para la edición del genoma, el sistema incluye Cas9 (una proteína capaz de modificar el DNA utilizando crRNA como su guía), RNA CRISPR (crRNA, contiene el RNA utilizado por Cas9 para guiarlo a la sección correcta del DNA del hospedador junto con una región que se une a tracrRNA (generalmente en forma de bucle) formando un complejo activo con Cas9), crRNA transactivador (tracrRNA, se une a crRNA y forma un complejo activo con Cas9), y una sección opcional de plantilla de reparación de DNA (DNA que guía el proceso de reparación celular, lo que permite la inserción de una secuencia específica de DNA). CRISPR/Cas9 a menudo emplea un plásmido para transfectar las células diana. Es necesario

diseñar el crRNA para cada aplicación, ya que esta es la secuencia que Cas9 utiliza para identificar y unirse directamente al DNA objetivo en una célula. La plantilla de reparación que lleva el casete de expresión de CAR también se debe diseñar para cada aplicación, ya que debe solaparse con las secuencias a ambos lados del corte y el código para la secuencia de inserción. Múltiples crRNA y el tracrRNA se pueden empaquetar juntos para formar un RNA guía simple (sgRNA). Este sgRNA puede unirse con el gen Cas9 y convertirse en un plásmido para ser transfectado en células.

Una nucleasa de dedo de cinc (ZFN) es una enzima de restricción artificial, que se genera al combinar un dominio de unión al DNA del dedo de cinc con un dominio de escisión del DNA. Un dominio de dedos de cinc se puede modificar para dirigirse a secuencias de DNA específicas que permiten que una nucleasa de dedos de cinc se dirija a las secuencias deseadas dentro de los genomas. Los dominios de unión al DNA de las ZFN individuales contienen, típicamente, múltiples repeticiones individuales de dedos de cinc y cada uno puede reconocer múltiples pares de bases. El método más común para generar un nuevo dominio de dedos de cinc es combinar módulos más pequeños de dedos de cinc de especificidad conocida. El dominio de escisión más común en las ZFN es el dominio de escisión no específico de la endonucleasa de restricción de tipo II FokI. Utilizando la maquinaria de recombinación homóloga endógena (HR) y una plantilla de DNA homóloga que lleva un casete de expresión de CAR, se pueden utilizar ZFN para insertar el casete de expresión de CAR en el genoma. Cuando la secuencia objetivo es escindida por los ZFN, la maquinaria de HR busca la homología entre el cromosoma dañado y la plantilla de DNA homólogo, y luego copia la secuencia de la plantilla entre los dos extremos rotos del cromosoma, por lo que la plantilla de DNA homólogo se integra en el genoma.

Las nucleasas efectoras similares a activadores de transcripción (TALEN) son enzimas de restricción que pueden manipularse para cortar secuencias específicas de DNA. El sistema TALEN funciona con casi el mismo principio que las ZFN. Esas se generan mediante la combinación de un dominio de unión al DNA de los efectores similares a activadores de transcripción con un dominio de escisión del DNA. Los efectores similares al activador de la transcripción (TALE) están compuestos por 33-34 motivos de repetición de aminoácidos con dos posiciones variables que tienen un reconocimiento potente para nucleótidos específicos. Mediante el ensamblaje de matrices de estos TALE, el dominio de unión al DNA de TALE se puede diseñar para enlazar la secuencia de DNA deseada, y así guiar a la nucleasa a cortar en lugares específicos en el genoma. La expresión de cDNA para su uso en métodos de terapia de polinucleótidos se puede dirigir desde cualquier promotor adecuado (por ejemplo, el citomegalovirus humano (CMV), el virus del simio 40 (SV40), promotores de metalotioneína o promotor de la ubiquitina C), y se puede regular por cualquier elemento regulador o intrón adecuado de mamíferos (por ejemplo, la estructura del potenciador/promotor/intrón del factor de elongación 1a).

Por ejemplo, si se desea, se pueden utilizar potenciadores conocidos por dirigir preferentemente la expresión génica en tipos celulares específicos para dirigir la expresión de un ácido nucleico. Los potenciadores utilizados pueden incluir, sin limitación, los que se caracterizan como potenciadores específicos de tejidos o células. Alternativamente, si se utiliza un clon genómico como constructo terapéutico, la regulación puede estar mediada por las secuencias reguladoras del cognado o, si se desea, por secuencias reguladoras derivadas de una fuente heteróloga, incluyendo cualquiera de los promotores o elementos reguladores descritos anteriormente.

Los métodos para entregar los agentes/sistemas de edición del genoma pueden variar dependiendo de la necesidad. En ciertas modalidades, los componentes de un método de edición del genoma seleccionado se administran como construcciones de DNA en uno o más plásmidos. En ciertas modalidades, los componentes se suministran a través de vectores virales. Los métodos de administración comunes incluyen, entre otros, electroporación, microinyección, pistola de genes, impalfección, presión hidrostática, infusión continua, sonicación, magnetofección, virus adenoasociados, pseudotipificación de la proteína de envoltura de vectores virales, vectores con capacidad de replicación, cis y elementos transactantes, virus herpes simple y vehículos químicos (por ejemplo, oligonucleótidos, lipoplexos, polimeromas, polímeros, dendrímeros, nanopartículas inorgánicas y péptidos penetrantes en las células).

5.9. Formulaciones y administración

La materia descrita en la presente también proporciona composiciones que comprenden las células descritas en la presente (por ejemplo, las descritas en la sección 5.5). En determinadas modalidades, la composición es una composición farmacéutica que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones que comprenden las células descritas en la presente se pueden proporcionar convenientemente como preparaciones líquidas estériles, por ejemplo, soluciones acuosas isotónicas, suspensiones, emulsiones, dispersiones o composiciones viscosas, que se pueden amortiguar hasta un pH seleccionado. Las preparaciones líquidas suelen ser más fáciles de preparar que los geles, otras composiciones viscosas y las composiciones sólidas. Además, las composiciones líquidas son algo más convenientes de administrar, especialmente mediante inyección. Las composiciones viscosas, por otro lado, pueden formularse dentro del rango de viscosidad adecuado para proporcionar períodos de contacto más largos con tejidos específicos. Las composiciones líquidas o viscosas pueden incluir vehículos, que pueden ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, solución salina, solución salina amortiguada con fosfato, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido y similares) y mezclas adecuadas de estos.

Las composiciones que comprenden las células descritas en la presente se pueden

proporcionar sistémica o directamente a un sujeto para inducir y/o mejorar una respuesta inmunitaria a un antígeno y/o tratar y/o prevenir una neoplasia. En ciertas modalidades, las células o composiciones que las comprenden descritas en la presente se inyectan directamente en un órgano de interés (p. ej., un órgano afectado por una neoplasia). Alternativamente, las células descritas en la presente o composiciones que las comprenden se proporcionan indirectamente al órgano de interés, por ejemplo, mediante la administración en el sistema circulatorio (p. ej., la vasculatura del tumor). Se pueden proporcionar agentes de expansión y diferenciación antes, durante o después de la administración de las células o composiciones para aumentar la producción de células *in vitro* o *in vivo*.

La cantidad de células a administrar puede variar en función del sujeto tratado. En ciertas modalidades, se administran entre alrededor de 10^4 y alrededor de 10^{10} , entre alrededor de 10^4 y alrededor de 10^7 , entre alrededor de 10^5 y alrededor de 10^7 , entre alrededor de 10^5 y alrededor de 10^9 , o entre alrededor de 10^6 y alrededor de 10^8 de las células descritas en la presente a un sujeto. En ciertas modalidades, se administran a un sujeto entre alrededor de 10×10^6 y alrededor de 150×10^6 de las células descritas en la presente. En determinadas modalidades, se administran entre alrededor de 25×10^6 y alrededor de 150×10^6 de las células descritas en la presente a un sujeto. En determinadas modalidades, se administran entre alrededor de 25×10^6 y alrededor de 50×10^6 de las células descritas en la presente a un sujeto. En ciertas modalidades, se administran a un sujeto al menos alrededor de 10×10^6 , alrededor de 25×10^6 , alrededor de 50×10^6 , alrededor de 100×10^6 o alrededor de 150×10^6 de las células descritas en la presente. En determinadas modalidades, se administran alrededor de 25×10^6 de las células descritas en la presente a un sujeto. La determinación precisa de lo que se consideraría una dosis efectiva se puede basar en factores individuales de cada sujeto, lo que incluye su tamaño, edad, sexo, peso y condición del sujeto en particular. Las dosis pueden ser fácilmente comprobadas por los expertos en la técnica de esta divulgación y el conocimiento en la técnica.

Las células y composiciones descritas en la presente se pueden administrar por cualquier método conocido en la técnica, lo que incluye, de modo no taxativo, la administración intravenosa, la administración subcutánea, la administración intranodal, la administración intratumoral, la administración intratecal, la administración intrapleural, la administración intraósea, la administración intraperitoneal, la administración pleural y la administración directa al sujeto. Las células descritas en la presente se pueden administrar en cualquier vehículo fisiológicamente aceptable, normalmente por vía intravascular, aunque también se pueden introducir en el hueso u otro lugar conveniente donde las células puedan encontrar un lugar apropiado para la regeneración y la diferenciación (por ejemplo, el timo).

5.10. Métodos de tratamiento

La materia descrita en la presente proporciona diversos métodos de uso de las células o

composiciones que las comprenden descritas en la presente. Las células descritas en la presente y sus composiciones pueden ser utilizadas en una terapia o un medicamento. Por ejemplo, la materia descrita en la presente proporciona métodos para inducir y/o aumentar una respuesta inmunitaria en un sujeto que lo necesita. Las células descritas en la presente y sus composiciones se pueden utilizar para

5 reducir la carga tumoral en un sujeto. Las células descritas en la presente y sus composiciones pueden reducir el número de células tumorales, reducir el tamaño del tumor y/o erradicar el tumor en el sujeto. Las células descritas en la presente y sus composiciones se pueden utilizar para tratar y/o prevenir un tumor en un sujeto. Las células descritas en la presente y sus composiciones se pueden utilizar para

10 prolongar la supervivencia de un sujeto que sufre de un tumor. En ciertas modalidades, cada uno de los métodos anteriormente mencionados comprende administrar las células descritas en la presente o una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que las comprende para lograr el efecto deseado, por ejemplo, paliar una afección existente o prevenir la recurrencia. Para el tratamiento, la cantidad administrada es una cantidad eficaz para producir el efecto deseado. Una cantidad eficaz se puede administrar en una administración o una serie de administraciones. Una cantidad eficaz se puede

15 administrar en bolo o mediante perfusión continua.

En ciertas modalidades, el tumor se asocia con ADGRE2 y/o CLEC12A. En determinadas modalidades, la célula tumoral expresa tanto ADGRE2 como CLEC12A. En determinadas modalidades, la célula tumoral sobreexpresa tanto ADGRE2 como CLEC12A.

En determinadas modalidades, el tumor es un cáncer. En determinadas modalidades, el tumor

20 es una neoplasia sanguínea. En ciertas modalidades, el tumor se selecciona del grupo que consiste en mieloma múltiple, leucemia, linfomas y neoplasias malignas mieloides. Los ejemplos no taxativos de leucemia incluyen leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crónica (CML), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia promielocítica aguda (APL), leucemia linfocítica mixta fenotipo de leucemia aguda (MLL), leucemia de células pilosas y leucemia

25 prolinfocítica de linfocitos B. Los ejemplos no taxativos de linfoma incluyen linfoma vinculado con SIDA, linfoma de linfocitos B grandes positivo para ALK, linfoma de Burkitt, leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma hodgkiniano clásico, linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma folicular, linfoma intravascular de linfocitos B grandes, linfoma de linfocitos B grandes que se presenta en la enfermedad de Castleman multicéntrica asociada con HHV8, granulomatosis linfomatoide, linfoma linfoplasmacítico,

30 linfoma de células del manto (MCL) linfoma de linfocitos B de zona marginal (MZL), linfoma de tejido linfático asociado a mucosa (MALT), linfoma de linfocitos B de zona marginal nodal (NMZL), linfoma hodgkiniano predominante de linfocitos nodulares, linfoma no hodgkiniano, linfoma de efusión primaria, linfoma esplénico de zona marginal (SMZL) y macroglobulinemia de Waldenström. El linfoma puede ser un linfoma de Hodgkin o un linfoma no hodgkiniano. Los ejemplos no taxativos de neoplasias

mieloides incluyen síndromes mielodisplásicos (MDS), neoplasias mieloproliferativas (MPN), neoplasias mieloides o linfoides (por ejemplo, neoplasias mieloides o linfoides con eosinofilia y rearreglo del receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas alfa (PDGFRA), receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas beta (PDGFRB) o receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 1 (FGFR1) o con PCM1-JAK2), leucemia mieloide aguda (AML), neoplasia de células dendríticas plasmocitoides, linfoma o leucemia linfoblástica de linfocitos B y linfoma o leucemia linfoblástica de linfocitos T). En determinadas modalidades, la neoplasia maligna mieloides comprenden síndromes mielodisplásicos.

En determinadas modalidades, el tumor es leucemia mieloide aguda (AML). En determinadas modalidades, el tumor es leucemia mieloide aguda recidivante o resistente (R/R AML).

En ciertas modalidades, el sujeto es un humano. Los sujetos pueden tener una forma avanzada de la enfermedad, en cuyo caso el objetivo del tratamiento puede incluir mitigar o revertir la progresión de la enfermedad, y/o mejorar los efectos adversos. Los sujetos pueden tener antecedentes de la afección, para la que ya han sido tratados, en cuyo caso el objetivo terapéutico normalmente incluirá una disminución o retraso en el riesgo de reaparición.

Como consecuencia de la expresión superficial de al menos un receptor quimérico descrito en la presente (por ejemplo, dos receptores quiméricos descritos en la presente, por ejemplo, un CAR dirigido a ADGRE2 y un CCR dirigido a CLEC12A descritos en la presente), las células transferidas adoptivamente están dotadas de actividad citolítica aumentada y selectiva en el sitio del tumor. Además, tras su localización en el tumor y su proliferación, las células convierten el lugar del tumor en un entorno muy conductor para una amplia gama de células implicadas en la respuesta antitumoral fisiológica.

Se puede introducir una modificación adicional en las células descritas en la presente para evitar o minimizar los riesgos de complicaciones inmunológicas (conocidas como «transformación maligna de linfocitos T»), por ejemplo, enfermedad del injerto contra el huésped (GvHD), o cuando los tejidos sanos expresan los mismos antígenos diana que las células tumorales, lo que conduce a resultados similares a la GvHD. Una solución potencial a este problema es la ingeniería de un gen suicida en las células descritas en la presente. Los genes suicidas adecuados incluyen, entre otros, la timidina quinasa del virus del herpes simple (hsv-tk), el gen suicida inducible Caspasa 9 (iCasp-9) y un polipéptido truncado del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano (EGFRt). En ciertas modalidades, el gen suicida es un polipéptido EGFRt. El polipéptido EGFRt puede permitir la eliminación de los linfocitos T mediante la administración de anticuerpos monoclonales anti-EGFR (p. ej., cetuximab). El EGFRt puede unirse covalentemente a la corriente anterior de los receptores quiméricos descritos en la presente. El gen suicida puede estar incluido dentro del vector que

comprende un ácido nucleico que codifica un receptor quimérico descrito en la presente. De esta manera, la administración de un profármaco diseñado para activar el gen del suicidio (p. ej., un profármaco (p. ej., AP1903 que puede activar iCasp-9) durante la transformación maligna de los linfocitos T (p. ej., EICH) desencadena la apoptosis en las células activadas por genes suicidas que expresan el receptor quimérico descrito en la presente. La incorporación de un gen suicida al receptor quimérico descrito en la presente proporciona un nivel adicional de seguridad con la capacidad de eliminar la mayoría de las células que expresan receptores en un período de tiempo muy corto. Una célula descrita en la presente incorporada con un gen suicida puede ser eliminada preventivamente en un momento dado después de la infusión celular, o erradicada a los primeros signos de toxicidad.

6. EJEMPLOS

La práctica de la presente divulgación empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología celular (lo que incluye técnicas recombinantes), microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, que se encuentran dentro de las capacidades del experto en la técnica. Esas técnicas se explican plenamente en la bibliografía, como *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, segunda edición (Sambrook, 1989); *Oligonucleotide Synthesis* (Gait, 1984); *Animal Cell Culture* (Freshney, 1987); *Methods in Enzymology Handbook of Experimental Immunology* (Weir, 1996); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (Miller and Calos, 1987); *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel, 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis, 1994); *Current Protocols in Immunology* (Coligan, 1991). Estas técnicas son aplicables a la producción de los polinucleótidos y polipéptidos descritos en la presente y, como tales, pueden tenerse en cuenta al elaborar y poner en práctica el tema descrito en la presente. En las secciones siguientes se analizarán técnicas particularmente útiles para modalidades particulares.

Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de proporcionar a los expertos en la técnica con una completa divulgación y descripción de cómo hacer y utilizar las células y composiciones descritas en la presente, y no tienen la intención de limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención.

Ejemplo 1 - ADGRE2 y CLEC12A como objetivos

La materia descrita en la presente evalúa un nuevo formato de CAR combinatorio para R/R AML que tenga el potencial de proporcionar seguridad y eficacia mejoradas en relación con las terapias CAR alternativas actualmente en investigación clínica.

La aplicación de la terapia con CAR en la AML se ve desafiada por su heterogeneidad fenotípica intra e interindividual, y se debe validar el objetivo ideal de CAR. Para identificar posibles dianas CAR, se analizaron los conjuntos de datos disponibles de transcriptómica y proteómica de tejidos malignos y normales y se realizó un análisis citométrico de flujo de muestras primarias de pacientes con AML,

células madre/progenitoras hematopoyéticas (HSPC) de médula ósea sanas y linfocitos T primarios sanos (Perna et ál., *Cancer Cell* 2(4):506-519.e5. (2017). Ninguno de los objetivos mostró un perfil de expresión superficial comparable con el de CD19, que se expresó en niveles altos en prácticamente todas las células de leucemia de linfocitos B, completamente ausente de HSPC y linfocitos T, e indetectable sistemáticamente fuera de las áreas de linfocitos B. Sin embargo, el análisis identificó el receptor acoplado a la proteína G de adhesión E2 (ADGRE2), un nuevo objetivo potencial de CAR para la AML. Los análisis por pares de las posibles dianas de CAR sugirieron que, en consonancia con la heterogeneidad clonal de la AML, un enfoque combinado de dianas de CAR puede ser potencialmente eficaz para erradicar los tumores de AML al tiempo que se minimiza la toxicidad.

ADGRE2 (EMR2) es un miembro de la familia de proteínas del factor de crecimiento epidérmico (EGF) TM7 (Lin et ál., *Genomics* 41.3 (1997): 301-308). Su expresión está restringida a monocitos o macrófagos y no aumenta en linfocitos T y B activados (Lin et ál., *Genomics* 67.2 (2000): 188-200). Los análisis de citometría de flujo revelaron positividad de ADGRE2 en >90 % de las células de AML en la mayoría de la población de pacientes con R/R AML analizada (Figura 1). Se observó que ADGRE2 era positivo tanto en la población global total con AML y, lo más importante, en la fracción terapéuticamente relevante de células madre leucémicas (LSC). Otros objetivos candidatos, como CD33 y CD123, también fueron positivos en la mayoría de los pacientes, aunque no de forma tan consistente como ADGRE2, especialmente en las LSC. Por lo tanto, se seleccionó ADGRE2 como el objetivo de CAR, ya que puede ofrecer una mayor probabilidad de lograr la remisión completa en pacientes con R/R AML.

El miembro A (CLEC12A/CD371) de la familia 12 del dominio de la lectina de tipo C es un objetivo candidato bien descrito en la AML y se expresa en la mayoría de los pacientes con AML (Perna et ál., *Cancer cell* 32.4 (2017): 506-519; Haubner et ál., *Leukemia* 33.1 (2019): 64-74; Bakker et ál., *Cancer research* 64.22 (2004): 43-8450) Otros grupos ya lo toman como un objetivo de CAR en los ensayos clínicos en curso de fase 1 en los Estados Unidos (Tashiro et ál., *Molecular Therapy* 25.9 (2017): 2202-2213).

La materia descrita en la presente propone el uso de un vector CAR-CCR combinatorio, denominado ADCLEC.syn1 (Figura 2), que codifica un CAR específico para ADGRE2 y un CCR específico para CLEC12A para tratar R/R AML. El CAR comprende un dominio coestimulador de CD28 y un dominio de activación de CD3 ζ 1XX atenuado. Se demostró previamente que la modificación genética de los motivos ITAM del dominio de señalización CD3 ζ proporcionó un mayor beneficio terapéutico al lograr un equilibrio favorable de características de memoria y efector, lo que mejora la persistencia de linfocitos T CAR funcionales en un modelo de ratón NALM6 de leucemia linfoblástica aguda pre-B (Feucht et ál., *Nature medicine* 25.1 (2019): 82-88). El CCR proporciona la coestimulación

de 4-1BB para mejorar la persistencia de linfocitos T y previene el escape de AML bajo en antígeno; no comprende un dominio CD3 ζ y por lo tanto no media la muerte celular como un CAR.

La expresión de ADGRE2 suele aumentar en las células de la AML en comparación con las células no malignas. Considerando la expresión de ADGRE2 en algunos tipos de células normales, lo que incluye las HSC, se diseñó una estrategia de focalización que se centraría preferentemente en las células de AML. En este enfoque, un primer paso fue disminuir la afinidad y el potencial de activación del ADGRE2 CAR para mejorar la seguridad de la terapia con CAR, y un segundo paso fue rescatar el compromiso del ADGRE2 CAR contra las LSC al dirigirse también a CLEC12A (CD371), una segunda molécula expresada en las LSC, pero no en las HSC, para prevenir que se evite la AML. Se seleccionó CLEC12A como diana a través de un receptor coestimulador quimérico (CCR), que proporciona mayor avidéz y coestimulación, pero no inicia la actividad citolítica. Por lo tanto, el CCR ayuda al CAR a detectar ADGRE2 en las células de la AML.

La señalización de CAR se activa cuando se compromete la porción de scFv del CAR, que depende de la afinidad de scFv del CAR y la densidad del antígeno objetivo del CAR. Se optimizó la afinidad de scFv de CAR de ADGRE2 para que las células sanas, que tienen niveles de antígeno ADGRE2 más bajos que las células tumorales de la AML, no activaran el CAR y, por lo tanto, se salvaran, lo que añadiría una importante característica de seguridad, pero al mismo tiempo aumentaría el riesgo de que se evite la AML a través de la regulación negativa de los niveles de antígeno ADGRE2 (Figura 3). Para mitigar el riesgo de que se evite la AML con ADGRE2 bajo, la adición del CCR de CLEC12A aumentó la avidéz general a las células de AML y, por lo tanto, «compensó» la menor afinidad de CAR de ADGRE2, mientras que no inicia la eliminación de las células ADGRE2-negativas/CLEC12a-positivas. Como el CCR de CLEC12A carece de un dominio CD3 ζ , no funcionó como un CAR. La activación aislada de las CCR en ausencia de activación simultánea del CAR no desencadenó la activación de los linfocitos T ni la citotoxicidad (Figura 3).

La elección de dianas y el diseño de receptores quiméricos se hicieron teniendo en cuenta las características de seguridad ligadas a la expresión de diana en tejidos normales y hematopoyesis normal. La coexpresión de ADGRE2 y CLEC12A se limitó al subgrupo de monocitos, mientras que todos los demás linajes principales tuvieron una expresión baja o indetectable de ADGRE2 por citometría de flujo (Figura 4A), lo que sugiere que ADCLEC.syn1 mostraría una actividad disminuida contra las células madre hematopoyéticas y los granulocitos (Figura 5). En comparación, los objetivos alternativos CD33 y CD123, que se expresaron de forma conjunta en HSC, produjeron una mayor toxicidad hematológica mediada por CAR (Figuras 4B y 5). Utilizando anticuerpos disponibles comercialmente para ADGRE2 y CLEC12A para IHC, el asunto descrito en la presente demostró que los tejidos no hematopoyéticos tenían un perfil de expresión en gran medida no solapado con la mayoría

de la señal detectada asociada con células derivadas de mieloides residentes en tejidos, como macrófagos (Figura 4C). En conjunto, estos datos de expresión objetivo indican que la diana combinatoria de ADGRE2 con un CAR y CLEC12A con un CCR a través del vector ADCLEC.syn1 puede minimizar la toxicidad de los linfocitos T CAR-CCR para los tejidos hematopoyéticos y no hematopoyéticos normales en relación con la diana ADGRE2 sola y proporciona una mayor probabilidad de preservar el HSC en comparación con los linfocitos T CAR CD33 o CD123.

En resumen, el CAR de ADGRE2 y el CCR de CLEC12A combinados en el vector ADCLEC.syn1 mitigaron el riesgo de que se evite el antígeno ADGRE2 y mejoraron la eficacia global de los linfocitos T CAR a través de la entrega optimizada de la señalización coestimuladora CD28 y 4-1BB en el contexto de la señalización ajustada del CAR CD3 ζ 1XX, pero sin acumular la toxicidad potencial en el objetivo o fuera del tumor como se produciría al combinar dos CAR. Esta elección combinatoria racional del objetivo y el diseño de receptores quiméricos puede reducir el riesgo de toxicidad no deseada al tiempo que mejora la orientación de la R/R AML, incluidos los LSC.

Ejemplo 2 – scFv de ADGRE2

La variable de fragmento de cadena simple (scFv) de ADGRE2 en el vector ADCLEC.syn1 se seleccionó a partir de 24 versiones de anticuerpos recombinantes humanizados generados utilizando la secuencia peptídica del anticuerpo monoclonal anti-ADGRE2 clon 2A1 humano. El esquema de selección de aglutinantes está presente en la Figura 6. El clon monoclonal antihumano ADGRE2 2A1 de ratón es un anticuerpo ampliamente utilizado para detectar la expresión de ADGRE2 en muestras humanas (Boyden et ál., *N Engl J Med.* 374(7):656-63. (2016). En base a (1) la expresión de las variantes de anticuerpos 2A1 humanizadas, (2) la unión de los anticuerpos recombinantes a células de linfoma murino con sobreexpresión de ADGRE2 EL4 medido por citometría de flujo, y (3) la puntuación de inmunogenicidad, se seleccionaron 18 anticuerpos recombinantes humanizados del grupo de candidatos. A continuación, se identificaron los dominios VH y VL para generar 18 candidatos a scFv que posteriormente se integraron en los vectores CAR gammaretrovirales basados en SFG y se probaron en ensayos CAR funcionales (figuras 7A-7C y 8).

Los linfocitos T CAR específicos de ADGRE2 se produjeron mediante la transducción de linfocitos T con el vector SFG-gammaretroviral que expresaba cada uno de los scFv 2A1 humanizados en el casete CAR, y la citotoxicidad de los linfocitos T CAR se midió utilizando la línea celular MOLM13 de AML. Conscientes de la expresión de ADGRE2 en algunos tipos celulares normales, incluyendo HSC, que expresan niveles más bajos de ADGRE2 que las células AML, las líneas celulares MOLM13 fueron modificadas genéticamente para niveles altos (WT), bajos o muy bajos de expresión de ADGRE2, con coexpresión de niveles bajos (WT) o altos de CLEC12A (ver Tabla 17 a continuación).

Tabla 17. Líneas celulares MOLM13 para estudios CAR usadas para la identificación de scFv de ADGRE2 y CLEC12A

Línea celular diana	Nivel de ADGRE2 (MFI en relación con WT)	Nivel de CLEC12A (MFI en relación con WT)
MOLM13-WT	alto (1x)	bajo (1x)
MOLM13_ADGRE2-1E8	bajo (0,2x)	bajo (1x)
MOLM13_ADGRE2-9D6	muy bajo (0,1x)	bajo (1x)
MOLM13_ADGRE2-E6_CLEC12A-C6	bajo (0,2x)	alto (25,9x)
MOLM13_ADGRE2-9D6_CLEC12A-B6	muy bajo (0,1x)	alto (15,7x)

Estas líneas celulares MOLM13 modificadas permitieron la identificación del scFv de ADGRE2 humanizado con el mayor potencial de agotamiento eficiente de las células de AML con alto contenido de ADGRE2, al tiempo que se conservan las células normales con bajo contenido de ADGRE2 y se mantiene así un perfil de seguridad favorable (figuras 7A a 7C y 8). El cribado *in vitro* de CAR incluyó 18 candidatos diferentes de scFv de ADGRE2 en el contexto de dos péptidos señal diferentes (CD8a o IgHV1-4). Se identificó un conjunto de 6 scFv que mediaron el patrón más adecuado de lisis de células diana *in vitro* (lisis máxima de células con ADGRE2 elevado y lisis mínima de células con ADGRE2 muy bajo) con una similitud elevada entre los dos péptidos señal evaluados (Figuras 7A a 7C). Luego, estos 6 scFv fueron probados en un modelo *in vivo* con la misma línea celular de AML MOLM13 con niveles altos (WT), bajos o muy bajos de ADGRE2. Aquí, el scFv de ADGRE2 ADGRE2-A demostró el patrón de respuesta *in vivo* más adecuado, con máxima eficacia frente a células diana con niveles altos de ADGRE2 y eficacia reducida o ausente frente a células diana con niveles bajos o muy bajos de ADGRE2, respectivamente. Por tanto, se seleccionó ADGRE2-A como scFv de ADGRE2 y con el péptido señal CD8a.

Ejemplo 3 - scFv de CLEC12A

El gen CLEC12A humano se seleccionó de 74 anticuerpos humanos únicos producidos por hibridomas generados mediante la fusión de células P3X63Ag8U.1 con linfocitos aislados de ratones inmunizados con proteína CLEC12A recombinante humana. Los clones positivos fueron seleccionados mediante el uso de unión a células CHO-S que expresan CLEC12A y ensayo de resonancia de plasmones superficiales. En la figura 9 se muestra el esquema de selección de la scFv.

Se evaluaron 16 candidatos humanos diferentes de scFv de CLEC12A en un formato 28z1XX, TRAC-CAR, utilizando ensayos *in vitro* de citotoxicidad con CAR durante 18 horas y modelos *in vivo*

de xenoinjertos. A diferencia de la estrategia para la identificación del scFv de ADGRE2, en la que se priorizó el scFv eficaz en el contexto de niveles de antígeno diana altos y bajos, considerando que la eventual aplicación del scFv sería en una CCR, no en un CAR, y que la alta sensibilidad diana del scFv de CLEC12A no se asociaría, por tanto, con un aumento de la toxicidad. El cribado *in vitro* de 16 scFv en el contexto de líneas celulares U937 (CLEC12A elevado) y MOLM13 (CLEC12A bajo) identificó 9 scFv CLEC12A altamente potentes (Figuras 10A y 10B). El posterior cribado *in vivo* de estos 9 scFv identificó el scFv de CLEC12A principal (CLEC12A-A) (Figura 11).

Ejemplo 4 - Unión inespecífica de scFv de ADGRE2 y scFv de CLEC12A

Las interacciones de unión fuera del objetivo de scFv de ADGRE2 (ADGRE2-A) y scFv de CLEC12A (CLEC12A-A) a las proteínas de la membrana plasmática humana se llevaron a cabo en un enfoque de 4 fases: (1) cribado previo para determinar las concentraciones óptimas de scFv-Fc de ADGRE2 recombinante purificado y proteínas de prueba scFv-Fc de CLEC12A para el cribado; (2) cribado para la unión de las proteínas de prueba contra las células HEK293 fijas que sobreexpresan 5474 proteínas de la membrana la longitud completa y la membrana las membranas plasmáticas humanas la superficie celular contenía proteínas secretadas humanas y 371 heterodímeros de superficie celular humana, que identificaban las respuestas positivas de biblioteca; (3) pruebas de confirmación/específicas utilizando micromatrices de células fijas y células vivas; (4) estudio de seguimiento basado en citometría de flujo para investigar más a fondo las interacciones específicas de proteínas de prueba identificadas en células vivas; y (5) ensayos de unión de célula a célula para confirmar respuestas positivas. En la tabla siguiente se resumen los datos no vinculantes de scFv de ADGRE2 y scFv de CLEC12A.

Tabla 18 Unión de scFv de ADGRE2 y scFv de CLEC12A a las proteínas identificadas en los cribados de células vivas y fijas

Artículo de prueba	Proteínas interactivas identificadas en los cribados	Nombre de proteína	EC50 de citometría de flujo	Enlace entre células
scFv-Fc ADGRE2	ADGRE2	Adhesión del receptor E2 acoplado a la proteína G	No evaluado	No evaluado
scFv-Fc CLEC12A	CLEC12A	miembro A de la familia 12 del dominio de lectina de tipo C	0,081 µg/mL	medio a fuerte
	SECTM1	Proteína secretada y	799,5 µg/mL	de débil a

		transmembrana 1		muy débil
	RTN4R	Receptor de reticulón-4	>300 µg/mL	No evaluado

De las 5845 proteínas de membrana plasmática analizadas, la proteína purificada ADGRE2-scFv-Fc se unió únicamente a su principal proteína de superficie de células diana, ADGRE2, tanto en micromatrices de células fijas como de células vivas. Además, ADGRE2-scFv-Fc no se unió a otras proteínas ADGRE ADGRE1, ADGRE3 y ADGRE5.

CLEC12A scFv-Fc mostró una fuerte interacción específica con su objetivo primario, CLEC12A. También tuvo una interacción baja pero detectable con SECTM1 en microarreglos de células fijas y de células vivas y con RTN3R en microarreglos de células vivas solamente. Los estudios de seguimiento que utilizaron titulación de dosis y experimentos de citometría de flujo utilizando scFv-Fc de CLEC12A purificado demostraron que las EC50 de scFv de CLEC12A frente a SECTM1 y RTN4R eran 800 veces y >3700 veces mayores que frente al objetivo primario de CLEC12A, respectivamente. Además, aunque las células de Jurkat que expresan CCR de CLEC12A se unieron a células HEK293 que sobreexpresan CLEC12A, las células de Jurkat que expresan CCR de CLEC12A tenían una unión muy débil a débil a células HEK293 que sobreexpresan SECTM1. Juntos, estos datos sugieren que la unión de scFv-Fc de CLEC12A a SECTM1 y RTN4R puede no ser fisiológicamente relevante. Cualquier posible unión inespecífica de los CCR de CLEC12A no provoca citotoxicidad sin activación simultánea de CAR de ADGRE2, lo que añade otra capa de seguridad (Figura 12).

Ejemplo 5 - Validación del concepto de selección de CAR+CCR como diana combinatoria de ADCLEC.syn1

Como se indica en los esquemas descritos en las figuras 3 y 5, el objeto actualmente divulgado planteaba la hipótesis de que el diseño CAR+CCR combinatorio de ADCLEC.syn1 permitiría la eliminación eficiente de la AML, al tiempo que se preservarían las células normales con niveles objetivo de CAR bajos. Es importante destacar que el CCR solo debe ayudar y mejorar la citólisis mediada por CAR, sin embargo, no desencadenar la citólisis de forma independiente. Este método se validó en modelos *in vitro* e *in vivo* (figura 12). En primer lugar, se estableció un modelo *in vitro* con una línea celular diana que no expresaba diana (ADGRE2-/CLEC12A-), expresaba diana de CAR sola (ADGRE2+/CLEC12A-), diana de CCR sola (ADGRE2-/CLEC12A+) o ambas dianas de CAR y CCR (ADGRE2+/CLEC12A+). La diana de CCR por sí sola no desencadenó la destrucción *in vitro*; sin embargo, la diana de CAR por sí sola desencadenó la destrucción, que se intensificó aun más cuando la diana de CCR se coexpresó en la línea celular diana (figura 12A). A continuación, se demostró *in vivo* que la señalización CAR de ADGRE2 por sí sola no era suficiente para erradicar por completo las

células con ADGRE2 bajo (modelado de células normales), sin embargo, la señalización de CAR de ADGRE2 y CCR de CLEC12A combinada permitió una remisión completa y duradera de la AML (figuras 12B y 12C). En general, estos resultados indican el potencial de ADCLEC.syn1 para preservar células normales con niveles bajos de CAR objetivo mientras se erradica eficientemente la AML.

5 **Ejemplo 6 - Vector retroviral SFG-ADCLEC.syn1**

Se construyó el plásmido gammaretroviral SFG-ADCLEC.syn1 (Figura 13) y se verificó la identidad del plásmido mediante análisis de secuenciación de Sanger. El vector gammaretroviral SFG-ADCLEC.syn1 expresa tanto el CAR específico de ADGRE2 como el CCR específico de CLEC12A vinculados a través de un elemento P2A, como se muestra en la figura 14.

10 El plásmido SFG se utiliza para transfectar transitoriamente células 293Vec-RD114, una línea celular de empaque basada en HEK 293 que produce vectores retrovirales pseudotipados con la envoltura RD114 felina. El sobrenadante vectorial que se obtiene de las células de envasado 293Vec-RD114TM se utiliza posteriormente para transducir la 293Vec-GaVTM, una segunda línea celular de envasado basada en HEK 293 y pseudotipificada con la proteína de envoltura del virus de la leucemia
15 del simio gibón, para generar una población estable de células productoras que expresen la 293Vec-GaV-SFG-ADCLEC.syn1. Se aíslan clones individuales de la población productora de vectores 293Vec-GaVTM SFG-ADCLEC.syn1, se generan varios bancos de semillas y se caracterizan los clones con mejor título. La mejor línea celular productora, el clon principal, se utiliza para generar el Master Cell Bank (MCB) a partir de los bancos de semillas. El material vectorial retroviral (VS) se fabrica a
20 partir de un vial de MCB.

Ejemplo 7 - Transducción ex vivo de linfocitos T autólogos con SFG-ADCLEC.syn1

Los linfocitos T autólogos de sangre periférica activados derivados de los pacientes se transducen ex vivo con cepas de vectores retrovirales SFG-ADCLEC.syn1 con pseudotipo de GaLV. Los linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ son aislados positivamente con micropartículas CD8 y CD4 con el
25 instrumento Prodigy CliniMACS plus (Miltenyi Biotec) y activados con dinabeads (ThermoFisher). La selección positiva inicial de linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ minimiza principalmente el número de linfocitos B, células plasmáticas y monocitos en el producto de linfocitos T transducidos. Se llevan a cabo ensayos de clasificación celular activada por fluorescencia (FACS) utilizando polipéptidos ADGRE2 o CLEC12A purificados marcados con colorante para medir la expresión del CAR de ADGRE2 y CCR de
30 CLEC12A para determinar la eficiencia de la transducción. Los productos para la administración al paciente tienen una eficiencia de transducción mayor o igual al 4 %.

Ejemplo 8 - Forma farmacéutica, vía de administración y régimen de dosificación (frecuencia y duración)

Los linfocitos T de CAR ADCLEC.syn1 se proporcionan en una bolsa crioconservada, se

descongelan en el lugar, p. ej., instalación hospitalaria, y se administran como una infusión intravenosa (IV) por gravedad. Los niveles de dosis planificados para ser evaluados durante el aumento de dosis se describen en la Tabla 19 a continuación.

Tabla 19. Niveles de dosis previstos de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1

Nivel de dosis (DL)	Dosis de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 (plana)
-1	10×10^6
1	25×10^6
2	50×10^6
3	100×10^6
4	150×10^6

5

La dosis inicial para los linfocitos T CAR de ADCLEC.syn1 es de 25×10^6 linfocitos T CAR. Esta dosis es significativamente menor que la dosis aprobada de CAR CD19 (2×10^6 linfocitos T CAR/kg para axicabtageno y 6 a 60×10^7 linfocitos T CAR para tisagenlecleucel) y también menor que las dosis de CAR BCMA que se están investigando actualmente en el mieloma múltiple (50 a 800×10^6 linfocitos T CAR). El aumento de dosis sigue un diseño estándar 3+3. Tras la identificación de RP2D, se puede ampliar la cohorte de dosis de RP2D.

10

Ejemplo 9 - Ensayo clínico

El presente ejemplo es un estudio de fase 1, abierto, de aumento gradual de la dosis para evaluar la seguridad y la actividad de los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 descritos en la presente en pacientes adultos con R/R AML. Se utiliza un esquema estándar de aumento de dosis 3+3 para determinar la dosis máxima tolerada (MTD) o la dosis máxima administrada (MAD) si no se alcanza la MTD. Una vez que se identifica la MTD o la MAD, la cohorte se amplía para incluir pacientes adicionales para evaluar más a fondo la seguridad y la actividad de los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1.

15

Las cohortes de 3 a 6 pacientes reciben dosis crecientes de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 para establecer la MTD. Hay 4 niveles de dosis previstos: 25×10^6 , 50×10^6 , 100×10^6 , 150×10^6 linfocitos T CAR. Se implementa un diseño estándar de aumento de dosis 3+3 a partir de la dosis 25×10^6 . Se tratan de 3 a 6 pacientes en cada cohorte y el aumento de dosis pasa a la siguiente cohorte si menos del 33 % de los pacientes en una cohorte experimentan toxicidad limitante de dosis no anticipada (DLT). Si se observa una toxicidad inaceptable en 1 de 3 pacientes en cualquier cohorte dada, se tratan hasta 6 pacientes en esa cohorte utilizando un esquema convencional de aumento de dosis. Si 2 de 6 pacientes de una cohorte cualquiera experimentan una toxicidad inaceptable, se ha superado la MTD de los linfocitos T y se ha establecido en el nivel de dosis de la cohorte anterior. Si el

20

25

primer nivel de dosis supera la MTD, se tratará a una cohorte posterior de 3 a 6 pacientes con el nivel de dosis -1 de 10×10^6 linfocitos T CAR ADCLEC.syn1.

Acondicionamiento o quimioterapia de linfodepleción. Los pacientes reciben quimioterapia de acondicionamiento que consiste en 25 mg/m² de fludarabina los días -4, -3, -2 y 500 mg/m² de ciclofosfamida los días -3, -2, seguida de perfusión de linfocitos T CAR el día 0.

Terapia de puentes. A criterio del médico responsable del tratamiento, se puede considerar la terapia de puente. El tratamiento con puentes se puede administrar después de la leucoféresis y se debe interrumpir al menos 1 semana antes de la administración de la quimioterapia de acondicionamiento, con la excepción de la hidroxiurea, que se puede continuar hasta al menos 24 horas antes del inicio de la quimioterapia de acondicionamiento. Los sujetos se deben reorganizar después del final del tratamiento con puentes y antes del inicio de la quimioterapia de acondicionamiento o dentro de las 48 horas previas a la administración de la quimioterapia de acondicionamiento.

Evaluación de la respuesta a la enfermedad. La biopsia de médula ósea se obtiene en el día 28 a 35 de la infusión de linfocitos T CAR para la evaluación de la respuesta y se evalúa según los criterios de ELN.

Ciclo de tratamiento tras la evaluación de la respuesta a la enfermedad D28-35. Después de la evaluación de la respuesta a la enfermedad, los cuidados posteriores se guían por el algoritmo sugerido como se muestra en la Figura 16.

Evaluación de citotoxicidad En cada visita del estudio, las toxicidades se clasifican de acuerdo con los Criterios de Terminología Común para Acontecimientos Adversos (CTCAE) versión 5.0 del National Cancer Institute (NCI) y la clasificación por consenso de ASTCT para el síndrome de liberación de citocinas (CRS) y el síndrome de neurotoxicidad asociada a células inmunoefectoras (ICANS).

Evaluación farmacocinética. Se realizan análisis de sangre para medir la farmacocinética antes de la administración de dosis, los días 1, 3, 5, 7, 14, 21 y 28 a 30. Las muestras de sangre posteriores se recogen los meses 2, 3, 6, 9, 12 y 24.

Niveles de dosis de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1. La dosis inicial para los linfocitos T CAR de ADCLEC.syn1 es de 25×10^6 linfocitos T CAR. Esta dosis es significativamente menor que la dosis aprobada de CAR CD19 (2×10^6 linfocitos T CAR/kg para axicabtageno y 6 a 60×10^7 linfocitos T CAR para tisagenlecleucel) y también menor que las dosis de CAR BCMA que se están investigando actualmente en el mieloma múltiple (50 a 800×10^6 linfocitos T CAR). Suponiendo un peso corporal de 70 kg, la dosis inicial propuesta se traduce en 2×10^5 linfocitos T CAR/kg y es comparable (o ligeramente inferior) a otras dosis iniciales autólogas de CAR para AML.

Toxicidad limitante de la dosis (DLT) Una DLT se define como cualquiera de los siguientes acontecimientos adversos (AE) que se producen en los 28 días siguientes a la perfusión de linfocitos T

CAR de ADCLEC.syn1, según los Criterios terminológicos comunes para acontecimientos adversos (CTCAE) v5.0 o las directrices de clasificación por consenso de ASTCT para el síndrome de liberación de citocinas (CRS) y el síndrome de neurotoxicidad asociada a células inmunoefectoras (ICANS): (a) cualquier AE no hematológico de grado ≥ 3 en órganos vitales (excluye CRS e ICANS) que no se resuelva a grado 2 o inferior en un plazo de 7 días; (b) neutropenia o trombocitopenia de grado 4 y celularidad de la médula ósea $< 5\%$ el día 28 en ausencia de AML persistente. Las citopenias persistentes que estaban presentes en el momento basal (quimioterapia de precondicionamiento y perfusión de linfocitos T) que persisten hasta el día 30 en ausencia de enfermedad activa no se consideran una DLT; (c) reacción a la perfusión $\geq$ grado 3; (d) ICANS de grado 3 o 4 de cualquier duración; (e) CRS de grado 4 de cualquier duración; (f) síndrome de lisis tumoral de grado 4; (g) síndrome de extravasación capilar de grado 4; y (h) cualquier acontecimiento de grado 5 relacionado con linfocitos T CAR ADCLEC.syn1.

Aumento de dosis El objetivo del aumento de la dosis es determinar la MTD/MAD de los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1. El aumento de dosis sigue las siguientes reglas de aumento de dosis 3+3: (a) los sujetos se incluyen en cohortes de tres sujetos por nivel de dosis con un mínimo de 10 días entre la administración de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 del primer y el segundo sujeto dentro de una cohorte; (b) si no se notifica DLT en la cohorte inicial de tres sujetos, el aumento de la dosis puede proceder al siguiente nivel de dosis más alto; (c) si un sujeto tiene una DLT, la cohorte se expande hasta seis sujetos. Si no se observan DLT adicionales, ese nivel de dosis se considera tolerable y el aumento de la dosis puede pasar al siguiente nivel de dosis más alto; (d) se considera no evaluable la DLT en un sujeto que interrumpe el tratamiento del estudio o se retira del estudio antes del final del período de observación con DLT por razones distintas a la DLT y se sustituye; (e) si más de un sujeto de los seis sujetos incluidos en la misma cohorte de dosis tiene una DLT, se ha superado la MTD. La inclusión posterior en esa cohorte de dosis se detiene; se incluyen seis sujetos con un nivel de dosis más bajo para determinar la MTD por reglas de aumento de dosis 3+3; (f) si el nivel de dosis que excedió la MTD es ≥ 2 veces más alto que el nivel de dosis tolerable previamente máximo, se puede incluir otro nivel de dosis aproximadamente a mitad de camino entre estos dos niveles para determinar la MTD por reglas de aumento de dosis 3+3; (g) la MTD es la cohorte de nivel de dosis más elevado con como máximo una DLT en seis sujetos evaluables.

Ampliación de dosis Los objetivos de la ampliación de la dosis son seguir evaluando la seguridad y la tolerabilidad e identificar las señales de actividad para guiar y apoyar el desarrollo futuro. La dosis de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 en la ampliación de dosis es la MTD/MAD que se estableció durante el aumento de dosis. Durante la fase de expansión de dosis, los sujetos con R/R AML son tratados de la misma manera que en la fase de aumento de dosis e incluye hasta aproximadamente 12

sujetos.

Medicamento en investigación. Los linfocitos T de CAR ADCLEC.syn1 se proporcionan como una bolsa crioconservada, se descongela en el lugar y se administra como una infusión intravenosa (IV) por gravedad. Los niveles de dosis planificados se evalúan durante el aumento de dosis descrito en la presente. Los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 se administran el día 0.

Medicamentos no en investigación La quimioterapia de acondicionamiento incluye (a) ciclofosfamida (CY), 500 mg/m² IV los días -3 y -2 de cada ciclo de tratamiento; y (b) fludarabina (FLU), 25 mg/m² IV los días -4, -3 y -2 de cada ciclo de tratamiento. La dosis y la pauta posológica de CY y FLU se pueden modificar en función de la citopenia y las comorbilidades médicas.

Objetivos del estudio. Las variables principales incluyen la incidencia y la naturaleza de las DLT cuando se administran linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 a pacientes con R/R AML. Las variables secundarias incluyen (a) incidencia, naturaleza y gravedad de los acontecimientos adversos de los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1; (b) tasa de respuesta objetiva (ORR) evaluada por el investigador, definida como la proporción de sujetos que alcanzan una respuesta completa (CR), CR con recuperación hematológica incompleta (CRi), estado libre de leucemia morfológica (MLFS) y respuesta parcial (PR), según los criterios de respuesta del ELN; (c) supervivencia libre de progresión (PFS), definida como la duración desde la primera dosis de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 (día 0) hasta la progresión de la enfermedad (PD), o hasta el día de la muerte por cualquier motivo, lo que ocurra antes; (d) supervivencia global (OS) a un año, definida como el porcentaje de sujetos que están vivos a un año desde el inicio del tratamiento del estudio; y (e) cinética celular de las linfocitos T CAR ADCLEC.syn1, expansión máxima y persistencia definida como la duración desde el día 1 hasta la última evaluación de los niveles detectables de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1, evaluada por PCR y citometría de flujo. Las variables exploratorias incluyen: (a) asociación de la ORR y/o la PFS con la expansión y duración de los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1, con expresión de antígenos ADGRE2 y CLEC12A, y fenotipos de linfocitos T CAR; (b) evaluación de MRD en aquellos pacientes que alcanzan CR o CRi evaluada mediante citometría de flujo multiparamétrica y/o NGS; (c) análisis de citocinas séricas tras la perfusión de linfocitos T CAR; (d) análisis de inmunogenicidad hacia la construcción de CAR-CCR; y (e) asociación de recidiva con niveles de expresión de ADGRE2 y CLEC12A, ADCLECsyn1 de linfocitos T CAR, fenotipo y cambios en el microentorno tumoral.

Criterios de evaluación de la respuesta tumoral Las respuestas antitumorales se evalúan de acuerdo con los criterios de respuesta de ELN en la AML. Los criterios de elegibilidad/inclusión incluyen (a) tener ≥18 años de edad en el momento de la firma de la ICF; (b) haber sido AML refractaria o recidivante que ha agotado o no es elegible o intolerante a las opciones terapéuticas estándar (el siguiente estado de la enfermedad es elegible para el estudio: (1) enfermedad refractaria primaria

después de dos ciclos de quimioterapia de inducción o después de un ciclo de hipometilante o citarabina a dosis bajas en combinación con venetoclax que no ha alcanzado CR/CRi o MLFS según los criterios del ELN; o (2) AML recurrente en cualquier momento después de alcanzar una respuesta (CR o CRi) durante o después del ciclo de tratamiento, incluido el tratamiento HSCT); (c) es admisible cualquier grado de enfermedad detectable; (d) estado funcional ECOG 0 o 1; (e) haber identificado un donante de células madre adecuado que pueda donar células en caso de que el sujeto necesite someterse a un HSCT alogénico para el rescate de aplasia medular prolongada (el donante puede proceder de una fuente, haplo o cordón emparentado o no emparentado, y debe ser adecuado según criterios estándar); y (f) tener una función orgánica adecuada definida como creatinina sérica <2,0 mg/100 ml, bilirrubina directa <2,0 mg/100 ml, AST y/o ALT $\leq 5 \times$ ULN, a menos que se considere debida a la afectación de órganos leucémicos. Los criterios de exclusión incluyen (a) diagnóstico de leucemia promielocítica aguda; (b) enfermedad del sistema nervioso central detectada radiológicamente o sintomática o enfermedad del sistema nervioso central 3, es decir, presencia de $\geq 5/\mu\text{l}$ leucocitos en CSF (los sujetos con leucemia del sistema nervioso central adecuadamente tratada son elegibles); (c) saturación de oxígeno < 90 % en aire ambiente; (d) HSCT alogénico previo dentro de los 3 meses posteriores a la firma de la ICF o con necesidad permanente de tratamiento sistémico de injerto contra huésped; (e) enfermedad cardiovascular clínicamente significativa, incluido accidente cerebrovascular o infarto de miocardio dentro de los 6 meses previos a la medicación del primer estudio; o la presencia de insuficiencia cardíaca inestable o angina congestiva de la New York Heart Association de grado 2 o superior, o fracción de eyección cardíaca < 40 %; (f) infecciones clínicamente significativas no controladas; (g) resultados positivos de las pruebas serológicas del VIH; (h) infección aguda o crónica por el HVB o el HVC evaluada mediante resultados serológicos (HBVsAg o HCV ab) o PCR; y (i) tumor maligno secundario activo que requiere tratamientos sistémicos, con la excepción de tumores malignos tratados con intención curativa y sin evidencia de enfermedad durante > 2 años antes de la detección.

Las reglas de interrupción incluyen (a) para el aumento de dosis, las reglas de interrupción son según las reglas de aumento de dosis; (b) para el aumento de dosis, se produce una interrupción temporal del reclutamiento en el estudio cuando cualquier paciente muere que se considera probable o posiblemente relacionada con linfocitos T CAR ADCLEC.syn1, o $\geq 30\%$ de los sujetos en una cohorte de expansión, donde al menos 6 sujetos han sido reclutados, experimentan una toxicidad relacionada con el tratamiento de linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 en cualquier momento del estudio que de otra manera habría calificado como una DLT.

Métodos estadísticos En general, los datos clínicos se resumen por cohorte, por separado para cada régimen, utilizando estadísticas descriptivas (n, media, desviación estándar, error estándar, mediana, primer cuartil (Q1), tercer cuartil (Q3), mínimo y máximo para las variables continuas, y

frecuencias y porcentajes para las variables categóricas). Cuando se presentan datos categóricos, los porcentajes se suprimen cuando el recuento de frecuencias es cero. Los porcentajes distintos de cero se redondean a una posición decimal, excepto el 100 %, que se indica sin ninguna posición decimal. Para las evaluaciones seleccionadas, se muestran los intervalos de confianza (CI). Las variables de tiempo hasta evento se resumen utilizando los métodos de Kaplan-Meier.

Ejemplo 10 – Identificación y caracterización de anticuerpos anti-ADGRE2 y scFv

El presente ejemplo demuestra la derivación y caracterización de las afinidades de unión de anticuerpos anti-ADGRE2 y scFv. Los anticuerpos se desarrollaron utilizando tecnología de hibridoma, que comprende 24 secuencias humanizadas del clon de referencia 1 del ratón. Se seleccionaron anticuerpos en función de la expresión como variantes de proteínas recombinantes, la unión a células de linfoma murino EL4 que sobreexpresan ADGRE2 medido por FACS, y la puntuación de inmunogenicidad, se seleccionaron 18 anticuerpos recombinantes humanizados que representaban un rango de afinidades de unión a ADGRE2. La secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-ADGRE2 de referencia 1 se determinó mediante digestión de endoproteasas y análisis posterior de agrupaciones peptídicas mediante LC-MS/MS. Brevemente, las cadenas pesadas y livianas del anticuerpo fueron separadas por SDS-PAGE bajo condiciones reductoras. Después de la tinción con azul de Coomassie, se cortaron las respectivas bandas del gel y se digirieron con Asp N, quimotripsina, tripsina y elastasa endopeptidasas. Además, el anticuerpo fue digerido en solución por pepsina. El pool de péptidos generados a partir de la digestión se analizó en un analizador Orbitap (LC-MS/MS Q-Exactive, ThermoFisher). Los datos de LC-MS/MS se procesaron utilizando el software de secuenciación de anticuerpos PEAKS AB. Las secuencias de codificación VH y VL anti-ADGRE2 de referencia 1 se derivaron de las respectivas secuencias de cadena de anticuerpos y se clonaron con una región constante de IgG2. El anticuerpo recombinante de referencia 1 se expresó en células HEK293, y el anticuerpo purificado se comparó con el anticuerpo de referencia 1 disponible comercialmente mediante un análisis de resonancia plasmónica de superficie (SPR) K_D utilizando una proteína producida recombinantemente que comprende el dominio extracelular de ADGRE2, así como se realizó la determinación de la EC_{50} para la unión a células que expresan ADGRE2. Para el análisis de anticuerpos posterior, se utilizó el anticuerpo recombinante purificado de referencia 1 como anticuerpo de referencia.

Ejemplo 11 - Unión en la célula de scFv anti-ADGRE2

Este ejemplo ilustra la unión en la célula para los scFv anti-ADGRE2 medida por citometría de flujo. La unión en células para los scFv anti-ADGRE2 se evaluó mediante citometría de flujo en las células E4 con sobreexpresión de ADGRE2. Se evaluó la capacidad de uno de los scFv para la unión a ADGRE2 y se comparó con el mAb de referencia 1. Brevemente, 100 000 células por pocillo, se

colocaron en una placa de fondo en V de 96 pocillos, scFv fueron diluidos a 200 nM scFv luego 1:4 en serie hasta 0,01 nM. Un ajuste dependiente de la dosis de los scFv validó el plegamiento de scFv recombinante y la unión a ADGRE2. Se compararon las afinidades EC_{50} con el fin de interpretar mejor las diferencias observadas *in vivo* que pudieran ser causadas por variaciones en las afinidades resultantes del proceso de humanización. Los datos se analizaron mediante el software Prism, utilizando una regresión de cuatro parámetros. Los valores aproximados de EC_{50} se determinaron utilizando la ecuación: $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC}_{50} - X) * \text{HillSlope}))}$, donde los parámetros ajustados se definen de la siguiente manera: Bottom, la meseta inferior que describe la unión mínima alcanzable; Top, la meseta superior que describe la unión máxima alcanzable; LogEC₅₀, el punto de inflexión de la curva de respuesta a la dosis también conocida como la concentración que produce una respuesta semimáxima; y Hill-Slope, la pendiente de la curva de respuesta a la dosis.

Tabla 20 Afinidad de unión de scFv anti-ADGRE2

scFv	Afinidad (EC_{50} nm)
ADGRE2-D	16,4
ADGRE2-B	55,3
ADGRE2-E	10,6
ADGRE2-A	93,8
ADGRE2-F	16,4
ADGRE2-C	53,2
Referencia 1	10,1

Como se muestra en la tabla 20, los valores de EC_{50} calculados a partir de las curvas muestran que cada uno de los anticuerpos se une a las células en afinidades de 10,2 a 93,8. En general, los resultados mostraron que los scFv humanizados ensayados tenían valores de EC_{50} comparables a la norma de referencia 1.

Ejemplo 12 - Análisis de inmunogenicidad *in silico* de scFv anti-ADGRE2

Este ejemplo ilustra el análisis de inmunogenicidad *in silico*. Brevemente, las secuencias de scFv de referencia 1 de ratón fueron analizadas con el scFv humanizado por un software de predicción de presentación MHC I y MHC II humano, basado en varias bases de datos de predicción IEDB, SMN-Align, NN-Align.

Tabla 21. Inmunogenicidad de los scFv anti-ADGRE2

scFv	Inmunogenicidad		
	MHC I	MHC II	MHC I + MHC II
ADGRE2-D	533	645	1178

ADGRE2-B	686	876	1562
ADGRE2-E	500	685	1185
ADGRE2-A	647	995	1642
ADGRE2-F	628	844	1472
ADGRE2-C	643	941	1584
Referencia 1	886	1183	2069

Como se muestra en la Tabla 21, la inmunogenicidad del anticuerpo se caracterizó en base a la unión del MHC I o del MHC II o a la unión tanto al MHC I como al MHC II. En general, los datos predicen una baja inmunogenicidad para todos los anticuerpos humanizados analizados.

5 **Ejemplo 13 - Ensayo de panel de detección inespecífica de scFv anti-ADGRE2**

Este ejemplo ilustra la especificidad de los scFv anti-ADGRE2 en un ensayo de unión inespecífica. Brevemente, se evaluó la unión inespecífica de las variantes humanizadas de scFv. Tres clones ejemplares de ADGRE2 scFv fueron ejecutados en el «ensayo de corte» para detectar la unión de más de 3000 receptores humanos. En el ensayo de corte, cuanto mayor sea la unión, mayor será la probabilidad de que la interacción sea real. En general, es poco probable que las respuestas positivas con la etiqueta «muy débil» sean interacciones reales. Los resultados mostraron que todos los clones evaluados no exhibieron ninguna unión inespecífica. Por lo tanto, se encontró que estos clones eran altamente específicos para ADGRE2.

15 **Ejemplo 14 - Caracterización de la unión Clec12A de anti-CLEC12A scFv**

El presente Ejemplo demuestra la derivación y la caracterización de afinidades de unión de anticuerpos anti-CLEC12A. Con el fin de seleccionar y cribar anticuerpos para Clec12A, se utilizó la tecnología del hibridoma. Las selecciones se realizaron en células Clec12A que sobreexpresan CHO-S. Se seleccionaron anticuerpos para una diversidad de secuencias. Se seleccionaron 16 anticuerpos de 74 anticuerpos para un rango de afinidades de unión a Clec12A solubles y no celulares. Las afinidades de unión de los anticuerpos Clec12A se determinaron mediante el análisis de Biacore.

Además, el presente ejemplo evalúa la unión inespecífica de los anticuerpos anti-CLEC12A. Para evaluar más a fondo el potencial de los anticuerpos anti-CLEC12A para unirse a proteínas de membrana no específicas, se evaluaron los scFv derivados de los 4 anticuerpos principales en un ensayo de proteína de membrana superficial (SMP) (Figura 17A). El ensayo SMP es un ensayo basado en ELISA con membranas de células HEK-293 humanas o SF9 de insectos recubiertas en la placa para probar la unión no específica a estas membranas por parte de los anticuerpos de prueba. Se incluyeron controles internos de anticuerpos de alta y baja unión inespecífica. El alto control de unión inespecífica, sc209, utilizado fue un anticuerpo que tiene efectos tóxicos fuera de la diana en la clínica, mientras que

el bajo control de unión inespecífica, 5f9, no ha demostrado efectos tóxicos fuera de la diana en la clínica (Figura 17B).

En general, los resultados mostraron una baja unión inespecífica por los anticuerpos anti-CLEC12A CLEC12-C, CLEC12-D y CLEC12A (Figura 17B)

5 **Ejemplo 15 - Ensayo de panel de detección inespecífica de scFv anti-CLEC12A**

Este ejemplo ilustra la especificidad de los scFv anti-CLEC12A en un ensayo de unión inespecífica. Brevemente, para evaluar la especificidad de los scFv anti-CLEC12A para Clec12A, así como otras proteínas de membrana, se realizó un ensayo de unión inespecífica. Dos clones seleccionados de Clec12A scFv fueron ejecutados en un «ensayo de corte» para detectar la unión de
10 más de 3000 receptores humanos. En el ensayo de corte, cuanto mayor sea la unión, mayor será la probabilidad de que la interacción sea real. En general, es poco probable que las respuestas positivas etiquetadas como «muy débil» sean interacciones reales. El scFvCLEC12A-A no mostró ninguna interacción inespecífica con ningún receptor que no sea Clec12A o los receptores que aparecen como artefactos en este ensayo. El ensayo de corte se utilizó para detectar clones para ensayos
15 inespecíficos. Algunos clones de scFv-Fc se están probando de manera más exhaustiva en ensayos adicionales de detección y confirmación.

Ejemplo 16 - Estudio preclínico

La terapia con linfocitos T CAR proporciona una potente opción terapéutica en varias neoplasias hematológicas relacionadas con linfocitos B. Uno de los principales desafíos de eficacia es que se
20 eviten las células tumorales con baja densidad de antígeno, que se ha observado clínicamente en varias neoplasias malignas tratadas con terapia con CAR. Se necesitan nuevos conceptos de diseño de CAR para abordar la heterogeneidad fenotípica, incluida la variabilidad clonal de la expresión del antígeno diana. La figura 18A ilustra conceptos CAR combinatorios previamente notificados, incluidos conceptos OR y AND de lógica booleana, así como la expresión CAR con IF-THEN.

25 Los inventores desarrollaron un concepto de CAR combinatorio que puede superar la resistencia a la AML debido a la heterogeneidad diana y a que se evita el antígeno bajo. La recidiva con antígeno bajo puede prevenirse a través de un nuevo diseño de receptores quiméricos con señalización combinatoria que es sinérgica y se ajusta a la elección del blanco respectivo.

Se realizó un perfil de expresión de antígeno citométrico de flujo en AML versus hematopoyesis
30 normal para varios candidatos objetivo de CAR previamente descubiertos en AML. Para proporcionar una plataforma para la identificación del diseño de CAR combinatorio ideal, se establecieron modelos *in vitro* e *in vivo* basados en líneas celulares humanas de AML con niveles de antígeno mayores o menores de ADGRE2 y CLEC12A para imitar la heterogeneidad diana de AML y en los que se evita el antígeno bajo. Utilizando un vector γ -retroviral bicistrónico, se seleccionaron diferentes formatos CAR

combinatorios dirigidos a ADGRE2 y CLEC12A.

ADGRE2 se seleccionó como objetivo de CAR debido a su alta tasa de positividad sobre la masa de AML y las células madre leucémicas (CPL) en una población de pacientes con AML molecularmente heterogénea (figuras 1A y 1B). Se midió la afinidad de un CAR dirigido a ADGRE2 que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno que comprende el scFv de ADGRE2-A y se ajustó la señalización de CD3zeta para lograr un umbral ideal de destrucción que permitiría preservar las células normales con bajo contenido de ADGRE2. A continuación, los inventores investigaron el potencial de la coselección de un segundo antígeno relacionado con la AML como diana para mitigar el potencial de evitar la AML con antígeno bajo dirigido al CAR. CLEC12A se identificó como un objetivo conjunto adecuado debido a sus perfiles de expresión no superpuestos en la hematopoyesis normal y otros tejidos vitales (Figuras 4A-4C).

Se desarrolló ADCLEC.syn1, una nueva construcción de CAR combinatoria que incluye un CAR 28z1XX dirigido a ADGRE2 que comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que comprende el scFv de ADGRE2-A y un receptor coestimulador quimérico (CCR) dirigido a CLEC12A que comprende un dominio extracelular de unión al antígeno que comprende el scFv de CLEC12A-A. Además, también se desarrolló una construcción que incluye un 28z1XX-CAR dirigido a ADGRE2 que comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que comprende el scFv de ADGRE2-A y un BBz-CAR dirigido a CLEC12A que comprende un dominio extracelular de unión a antígeno que comprende el scFv de CLEC12A-A.

ADCLEC.syn1 opera sobre la base de una estrategia de apertura del canal descrita como «IF-BETTER» (Figura 18B): la expresión de diana del CAR elevada sola desencadena la muerte, mientras que la baja expresión de diana del CAR no lo hace, a menos que exista una diana de CCR. La interacción adicional con las CCR reduce el umbral para la muerte mediada por CAR mediante el aumento de la avidéz y la coestimulación, lo que permite una mayor sensibilidad a CAR que se limita intencionalmente a las células diana que expresan ambos antígenos.

En el contexto de ADCLEC.syn1, las células ADGRE2-positivas/CLEC12A-negativas y ADGRE2-positivas/CLEC12A-positivas desencadenaron la lisis celular, mientras que las células ADGRE2-negativas/CLEC12A-positivas y las células ADGRE2-negativas/CLEC12A-negativas se salvaron. Es importante destacar que ADCLEC.syn1 medió una eliminación más eficiente de las células ADGRE2-positivas/CLEC12A-positivas en comparación con las células ADGRE2-positivas/CLEC12A-negativas (Figura 19A).

Utilizando líneas celulares de AML con niveles variables de ADGRE2 para modelar el que se evite el antígeno, ADCLEC.syn1 tuvo una capacidad de destrucción superior frente a las células diana de AML ADGRE2-baja/CLEC12A-baja y ADGRE2-muy baja/CLEC12A-baja en comparación con

ADGRE2-CAR (Figura 19B).

Utilizando modelos de xenoinjertos *in vivo* de NSG de variantes de líneas celulares de AML MOLM13 modificadas mediante ingeniería genética con bajos niveles de ADGRE2 para modelar que se evite el antígeno, se encontró que ADCLEC.syn1 superaba a un CAR dirigido a ADGRE2 que comprendía un dominio extracelular de unión a antígeno que comprendía el scFv de ADGRE2-A solo sin un CCR dirigido a CLEC12A que carecía de asistencia a través de CLEC12A-CCR. Es importante destacar que ADCLEC.syn1 también superó a una versión alternativa de doble CAR idéntica (ADGRE2-CAR + CLEC12A-CAR con compuerta OR) en el contexto de ADGRE2-MOLM13 bajo, lo que subraya aún más la importancia de una señalización general ajustada (Figura 20). También se confirmó una alta *potencia in vivo* frente a diversas líneas celulares de AML con un amplio rango de niveles de ADGRE2 y CLEC12A que reflejan la heterogeneidad de la AML en toda la población (Figura 20).

A dosis clínicamente relevantes de linfocitos T CAR, ADCLEC.syn1 indujo remisiones completas y duraderas en modelos de xenoinjerto de MOLM13 (ADGRE2-alto/CLEC12A-bajo) y U937 (ADGRE2-bajo/CLEC12A-alto). Específicamente, en los modelos de xenoinjerto de GSN utilizando una variante de la línea celular de AML MOLM13 con niveles altos de antígeno ADGRE2 (WT) y CLEC12A, los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 se ajustaron a dosis bajas, estableciendo 1×10^5 linfocitos T ADCLEC.syn1 como dosis mínima eficaz para inducir una remisión completa y duradera (Figura 20). Se observó que los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1 eran funcionalmente persistentes durante > 70 días, con una sola dosis de linfocitos T CAR que evitaba potencialmente la recaída, modelada mediante reexposiciones a AML (Figura 21).

En resumen, estos datos proporcionan pruebas preclínicas de que un linfocito T CAR+CCR dependiente de IF-BETTER (ADCLEC.syn1) puede superar a un linfocito T CAR único (ADGRE2-CAR) y un linfocito T CAR dual (ADGRE2-CAR+CLEC12A-CAR). ADCLEC.syn1 aumentó la eficacia antileucémica y previno que se evitara la AML con bajo contenido de antígeno mediante la detección de una firma de antígeno diana combinatoria racionalmente seleccionada que se encuentra comúnmente en la AML, pero limitada en las células normales vitales. Utilizando modelos de xenoinjerto de AML fenotípicamente representativos y dosis clínicamente relevantes de linfocitos T, se demostró el alto potencial terapéutico de los linfocitos T CAR ADCLEC.syn1, lo que apoya la traducción clínica de un concepto de CAR dependiente de «IF-BETTER» en un ensayo de fase 1.

Si bien el tema descrito en la presente y algunas de sus ventajas se han descrito en detalle, debe entenderse que en el presente documento pueden introducirse diversos cambios, sustituciones y modificaciones sin apartarse del espíritu y el alcance de la divulgación. Por otra parte, el ámbito de aplicación de la presente solicitud no pretende limitarse a las materializaciones particulares del proceso,

la máquina, la fabricación y la composición de la materia, ni a los métodos descritos en la memoria descriptiva. Como apreciará fácilmente el experto en la técnica a partir de la divulgación de la materia, se pueden usar procesos, máquinas, fabricación, composiciones de materia o métodos actualmente existentes o que se desarrollarán en el futuro que realizan sustancialmente la misma función o logran sustancialmente el mismo resultado que las modalidades correspondientes descritas en la presente de acuerdo con la materia divulgada en la presente. Por consiguiente, las reivindicaciones que se adjuntan tienen por objeto incluir en su ámbito de aplicación esos procesos, máquinas, fabricación, composición de la materia o métodos.

A lo largo de esta solicitud se citan diversas patentes, solicitudes de patentes, publicaciones, descripciones de productos, protocolos y números de acceso secuenciales, cuyas divulgaciones se incorporan a la presente mediante esta referencia en su totalidad a todos los efectos.