

RECEPTOR MULTIPARTITO Y COMPLEJOS DE SEÑALIZACIÓN

REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio conforme a 35 U.S.C. § 119(e) de la solicitud provisional de los Estados Unidos núm. 63/329,003, presentada el 8 de abril de 2022, que se
5 incorpora como referencia en la presente descripción en su totalidad.

ANTECEDENTES

Campo técnico

La presente descripción se refiere a terapias celulares adoptivas mejoradas. Más particularmente, la descripción se refiere a moléculas y células de señalización de receptores
10 inmunitarios y métodos mejorados para usarlas para modular el control espacial y/o temporal del inicio de la señal del receptor inmunitario y las respuestas corriente abajo durante la inmunoterapia adoptiva.

Descripción de la técnica relacionada

La carga global del cáncer se duplicó entre 1975 y 2000. El cáncer es la segunda causa
15 principal de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, con aproximadamente 14,1 millones de casos nuevos y 8,2 millones de muertes relacionadas con el cáncer en 2012. Se prevé que el número de nuevos casos de cáncer aumente a 22 millones en las próximas dos décadas.

Aunque las quimioterapias y posteriormente los productos biológicos han sido el estándar de atención durante décadas, la terapia celular adoptiva está emergiendo como un
20 poderoso paradigma para suministrar señales biológicas complejas para tratar el cáncer. A diferencia de las composiciones de moléculas pequeñas y fármacos biológicos, las terapias celulares adoptivas tienen el potencial de ejecutar tareas terapéuticas únicas debido a sus numerosos programas sensoriales y de respuesta y mecanismos de control genético cada vez más definidos. Para lograr tal valor terapéutico, las células deben equiparse con maquinaria
25 para detectar e integrar información química y/o biológica asociada con ambientes fisiológicos locales.

En los últimos años, equipar las células con receptores de antígeno quimérico (CAR, por sus siglas en inglés) o receptores de células T (TCR, por sus siglas en inglés) transgénicos ha demostrado ser una forma potente de dirigir las células inmunitarias a un antígeno particular (por ejemplo, un antígeno tumoral), estimular la transducción de señales activadoras de células T y, en última instancia, atacar y destruir las células asociadas a antígeno (por ejemplo, células cancerosas). A pesar de estos éxitos, sigue habiendo diferencias y limitaciones fundamentales entre las dos arquitecturas, que incluyen i) sensibilidad ii) reconocimiento de antígenos, iii) actividad de señalización independiente de antígenos, y iv) falta de regulabilidad. En consecuencia, sigue existiendo la necesidad de una maquinaria de direccionamiento y señalización mejorada que detecte y responda de manera más potente a los antígenos diana y las células asociadas.

BREVE COMPENDIO

La presente descripción generalmente se refiere, en parte, a complejos de inmunorreceptores modificados genéticamente que pueden reconocer un antígeno diana y reclutar y activar un complejo de señalización de inmunorreceptores natural o transgénico, por ejemplo, un complejo de señalización del receptor de células T (TCR), polinucleótidos y polipéptidos que lo codifican, composiciones de este, y métodos para elaborarlo y usarlo para tratar un trastorno o enfermedad (por ejemplo, cáncer o enfermedad autoinmune).

En un aspecto, se describe en la presente descripción una célula no natural, que comprende un componente de señalización que comprende (i) un primer dominio de multimerización que comprende un polipéptido FRB o variante de este o un polipéptido FKBP o variante de este, (ii) un primer enlazador polipeptídico, y (iii) un polipéptido CD3 ϵ o variante de este; y un componente de direccionamiento que comprende (i) un scFv o anticuerpo de dominio único (sdAb, por sus siglas en inglés) anti-CLL1, (ii) un scFv o anticuerpo de dominio único (sdAb) anti-CD33, (iii) un segundo enlazador polipeptídico, (iv) un segundo dominio de multimerización que comprende un polipéptido FRB o variante de este o un polipéptido FKBP o

variante de este, (v) un polipéptido bisagra CD4, (vi) un polipéptido transmembrana CD4, y (vii) un polipéptido intracelular CD4 truncado.

En algunas modalidades, el componente de direccionamiento no comprende un dominio intracelular funcional o dominio coestimulador que tenga capacidades de señalización. En

5 algunas modalidades, el polipéptido bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 41.

En una modalidad, un polipéptido bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 41.

10 En algunas modalidades, el polipéptido CD3 ϵ comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 32.

En una modalidad, un polipéptido CD3 ϵ comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 32. En algunas modalidades, el polipéptido CD3 ϵ comprende porciones extracelulares e intracelulares.

15 En algunas modalidades, los polipéptidos FRB y FKBP se localizan extracelularmente cuando se expresan los componentes de señalización y direccionamiento. En algunas modalidades, el primer y segundo dominios de multimerización son diferentes. En algunas modalidades, el primer dominio de multimerización comprende un polipéptido FRB o variante de este, y el segundo dominio de multimerización comprende un polipéptido FKBP12 o variante de este. En algunas modalidades, el primer dominio de multimerización comprende un polipéptido

20 FKBP12 o variante de este, y el segundo dominio de multimerización comprende un polipéptido FRB o variante de este. En una modalidad, el polipéptido FRB es una variante FRB T2098L. En

algunas modalidades, el polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de identidad con, o comprende la secuencia expuesta como SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, el polipéptido FRB comprende una

25 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, identidad con o que comprende una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 2. En algunas

modalidades, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de identidad con, o comprende la secuencia expuesta como SEQ ID NO: 3. En algunas modalidades, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de

5 identidad con, o comprende la secuencia expuesta como SEQ ID NO: 4.

En algunas modalidades, los dominios de multimerización del componente de señalización y el componente de direccionamiento se asocian con un factor de formación de puentes. En algunas modalidades, el factor de formación de puentes se selecciona del grupo que consiste en: rapamicina o un rapálogo de esta, giberelina o un derivado de esta, ácido
10 abscísico (ABA) o un derivado de este, metotrexato o un derivado de este, ciclosporina A o un derivado de esta, FK506/ciclosporina A o un derivado de esta, ligando sintético de trimetoprima (Tmp) para la proteína de unión a FK506 (FKBP, por sus siglas en inglés) (SLF, por sus siglas en inglés) o un derivado de este, en donde el factor de formación de puentes promueve la formación de un complejo polipeptídico, con el factor de formación de puentes asociado con y
15 dispuesto entre los dominios de multimerización de los componentes de señalización y direccionamiento. En algunas modalidades, el factor de formación de puentes es AP1903, AP20187, AP21967 (también conocido como C16-(S)-7-metilindolrapamicina), everolimus, novolimus, pimecrolimus, ridaforolimus, sirolimus, tacrolimus, temsirolimus, umirolimus, zotarolimus, o BPC015.

20 En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2xG4S, 3xG4S, 4xG4S, 5xG4S, y cualquier combinación de estos. En una modalidad, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador 3xG4S. En algunas modalidades, el segundo enlazador
25 polipeptídico es un enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS,

GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2x G4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos.

En una modalidad, el segundo enlazador polipeptídico es un enlazador G4S. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 y el scFv o sdAb anti-CD33 están separados por un tercer enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el tercer enlazador polipeptídico es un

5 enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el tercer enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2x G4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el tercer enlazador polipeptídico es un enlazador G4S.

En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia
10 de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, un polipéptido transmembrana CD4 comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, el polipéptido CD4 intracelular truncado comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 48. En una modalidad, el polipéptido CD4 intracelular truncado
15 comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 49.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CLL1 y anti-CD33 son cada uno un sdAb. En algunas modalidades, el sdAb es un VHH, nanocuerpo, o anticuerpo solo de cadenas pesadas (HcAb, por sus siglas en inglés) de camélido. En una modalidad, el sdAb es un VHH de camélido. En algunas modalidades, el scFv o el sdAb es humano o humanizado. En algunas
20 modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 como se expone en las SEQ ID NO: 92, 93, y 94, respectivamente. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende una secuencia como se expone en la SEQ ID NO: 75. En
25 algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CD33 comprende secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 como se expone en las SEQ ID NO: 89, 90, y 91, respectivamente. En algunas

modalidades, el scFv o sdAb anti-CD33 comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CD33 comprende una secuencia como se expone en la SEQ ID NO: 72.

En algunas modalidades, el componente de señalización comprende además una
5 secuencia señal. En algunas modalidades, la secuencia señal es una secuencia señal CD8. En algunas modalidades, la secuencia señal CD8 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 96. En una modalidad, la secuencia señal CD8 comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 96. En algunas modalidades, el componente de direccionamiento comprende
10 además una secuencia señal. En algunas modalidades, la secuencia señal es una secuencia señal IgK. En algunas modalidades, la secuencia señal IgK comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En una modalidad, la secuencia señal IgK comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 95. En algunas modalidades, el componente de
15 señalización comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En una modalidad, el componente de señalización comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 111. En algunas modalidades, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 122. En
20 una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 122.

En algunas modalidades, la célula no natural comprende un polipéptido de fusión que comprende el componente de direccionamiento y el componente de señalización. En algunas modalidades, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad, el
25 polipéptido de fusión comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 151.

En algunas modalidades, la célula comprende una primera molécula de ácido nucleico que codifica el componente de señalización. En algunas modalidades, la célula comprende una segunda molécula de ácido nucleico que codifica el componente de direccionamiento. En algunas modalidades, la célula comprende una molécula de ácido nucleico que codifica tanto el componente de señalización como el componente de direccionamiento.

En algunas modalidades, la célula expresa además un factor coestimulador exógeno, un factor inmunomodulador, un agonista para un factor coestimulador, un antagonista para un factor inmunosupresor, un acoplador de células inmunitarias, un receptor de flip, o cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, la célula expresa además un receptor o correceptor de linfocitos exógeno. En algunas modalidades, el receptor o correceptor de linfocitos exógeno se selecciona del grupo que consiste en: TCR alfa (TCR α), TCR beta (TCR β), TCR gamma (TCR γ), TCR delta (TCR δ), CD4, CD8, prerreceptor de células T α (pT α), receptor Fc alfa (FcR α), receptor Fc beta (FcR β), receptor Fc gamma (FcR γ), miembro D del grupo 2 de células asesinas naturales (NKG2D), CD79A, CD79B, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, la célula expresa además un TCR exógeno. En algunas modalidades, el TCR exógeno se une a un antígeno diana seleccionado del grupo que consiste en: α -fetoproteína (AFP), miembros de la familia de antígenos de melanoma B (BAGE), hermano del regulador de sitios impresos (BORIS, por sus siglas en inglés), antígenos cancerosos-testiculares, antígeno canceroso-testicular 83 (CT-83), anhidrasa carbónica IX (CA1X), antígeno carcinoembrionario (CEA, por sus siglas en inglés), antígenos de citomegalovirus (CMV), antígeno o melanoma reconocido por célula T citotóxica (CTL) (CAMEL), antígenos del virus de Epstein-Barr (EBV, por sus siglas en inglés), antígeno G 1 (GAGE-1), GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7B, GAGE-8, glicoproteína 100 (GP100), antígenos del virus de la hepatitis B (HBV, por sus siglas en inglés), proteína no estructural 3 (NS3, por sus siglas en inglés) del virus de la hepatitis C (HCV, por sus siglas en inglés), receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER-2), papilomavirus

humano (HPV)-E6, HPV-E7, telomerasa transcriptasa inversa humana (hTERT), IGF2BP3/A3, K-Ras, K-Ras G12C, K-Ras G12D, K-Ras G12V, proteína de membrana latente 2 (LMP2, por sus siglas en inglés), familia de antígenos del melanoma A 1 (MAGE-A1), MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A10, MAGE-A12, antígeno de melanoma reconocido por células T (MART-1), mesotelina (MSLN), mucina 1 (MUC1), mucina 16 (MUC16), carcinoma de células escamosas esofágicas de Nueva York 1 (NYESO-1), P53, miembros de la familia de antígenos P (PAGE), específico de la placenta 1 (PLAC1), antígeno expresado preferencialmente en el melanoma (PRAME), survivina, sarcoma sionvial X 1 (SSX1), sarcoma sionvial X 2 (SSX2), sarcoma sionvial X 3 (SSX3), sarcoma sionvial X 4 (SSX4), sarcoma sionvial X 5 (SSX5), sarcoma sionvial X 8 (SSX8), tiroglobulina, tirosinasa, proteína relacionada con la tirosinasa (TRP)1, TRP2, proteína del tumor de Wilms (WT-1), miembro 1 de la familia de antígenos X (XAGE1), y miembro 2 de la familia de antígenos X (XAGE2). En algunas modalidades, el TCR exógeno es un $\alpha\beta$ -TCR o $\gamma\delta$ -TCR.

En algunas modalidades, la célula expresa además un CAR, CCR, o receptor de flip. En algunas modalidades, la célula expresa además una zetacina, un acoplador de células inmunitarias, o un BiTE. En modalidades adicionales, la célula es una célula hematopoyética. En algunas modalidades, la célula es una célula T, una célula $\alpha\beta$ -T, o una célula $\gamma\delta$ -T. En algunas modalidades, la célula es una célula CD3⁺, CD4⁺, y/o CD8⁺. En algunas modalidades, la célula es una célula efectora inmunitaria. En modalidades adicionales, la célula es un linfocito T citotóxico (CTL, por sus siglas en inglés), un linfocito infiltrante de tumor (TIL, por sus siglas en inglés), o una célula T cooperadora. En modalidades adicionales, la célula es una célula asesina natural (NK, por sus siglas en inglés) o una célula T asesina natural (NKT, por sus siglas en inglés). En modalidades particulares, la fuente de la célula son las células mononucleares de sangre periférica, la médula ósea, el tejido de los nodos linfáticos, la sangre de cordón, el tejido del timo, el tejido de un sitio de infección, la ascitis, la efusión pleural, el tejido del bazo, o los tumores. En una modalidad, la célula no natural es una célula aislada no

natural. En una modalidad, la célula no natural se obtiene de un sujeto. En una modalidad, la célula no natural es una célula humana. En algunas modalidades, la célula comprende además un polipéptido que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 137. En una modalidad, la célula comprende además una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 137. En algunas modalidades, la célula comprende además un polipéptido que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 138. En algunas modalidades, la célula comprende además una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 138.

En un aspecto, se describe en la presente descripción un polipéptido de fusión que comprende un componente de señalización que comprende (i) un primer dominio de multimerización que comprende un polipéptido FRB o variante de este o un polipéptido FKBP o variante de este, (ii) un primer enlazador polipeptídico, y (iii) un polipéptido CD3ε o variante de este; y una señal de escisión de polipéptido; y un componente de direccionamiento que comprende (i) un scFv o anticuerpo de dominio único (sdAb) anti-CLL1, (ii) un scFv o anticuerpo de dominio único (sdAb) anti-CD33, (iii) un segundo enlazador polipeptídico, (iv) un segundo dominio de multimerización que comprende un polipéptido FRB o variante de este o un polipéptido FKBP o variante de este, (v) un polipéptido bisagra CD4, (vi) un polipéptido transmembrana CD4, y (vii) un polipéptido intracelular CD4 truncado.

En algunas modalidades, el componente de direccionamiento no comprende un dominio intracelular funcional o dominio coestimulador que tenga capacidades de señalización. En algunas modalidades, el polipéptido bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 41. En una modalidad, un polipéptido bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 41.

En algunas modalidades, el polipéptido CD3ε comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 32.

En una modalidad, un polipéptido CD3 ϵ comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 32. En algunas modalidades, el polipéptido CD3 ϵ comprende porciones extracelulares e intracelulares.

En algunas modalidades, los polipéptidos FRB y FKBP se localizan extracelularmente cuando se expresan los componentes de señalización y direccionamiento. En algunas modalidades, el primer y segundo dominios de multimerización son diferentes. En algunas modalidades, el primer dominio de multimerización comprende un polipéptido FRB o variante de este, y el segundo dominio de multimerización comprende un polipéptido FKBP12 o variante de este. En algunas modalidades, el primer dominio de multimerización comprende un polipéptido FKBP12 o variante de este, y el segundo dominio de multimerización comprende un polipéptido FRB o variante de este. En una modalidad, el polipéptido FRB es una variante FRB T2098L. En algunas modalidades, el polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, identidad con o que comprende una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, el polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, identidad con o que comprende una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 2. En algunas modalidades, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de identidad con, o comprende la secuencia expuesta como SEQ ID NO: 3. En algunas modalidades, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de identidad con, o comprende la secuencia expuesta como SEQ ID NO: 4.

En algunas modalidades, los dominios de multimerización del componente de señalización y el componente de direccionamiento se asocian con un factor de formación de puentes. En algunas modalidades, el factor de formación de puentes se selecciona del grupo que consiste en: rapamicina o un rapálogo de esta, giberelina o un derivado de esta, ácido abscísico (ABA) o un derivado de este, metotrexato o un derivado de este, ciclosporina A o un

derivado de esta, FK506/ciclosporina A o un derivado de esta, ligando sintético de trimetoprima (Tmp) para la proteína de unión a FK506 (FKBP) (SLF) o un derivado de este, en donde el factor de formación de puentes promueve la formación de un complejo polipeptídico, con el factor de formación de puentes asociado con y dispuesto entre los dominios de multimerización de los componentes de señalización y direccionamiento. En algunas modalidades, el factor de formación de puentes es AP1903, AP20187, AP21967 (también conocido como C16-(S)-7-metilindolrapamicina), everolimus, novolimus, pimecrolimus, ridaforolimus, sirolimus, tacrolimus, temsirolimus, umirolimus, zotarolimus, o BPC015.

En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2xG4S, 3xG4S, 4xG4S, 5xG4S, y cualquier combinación de estos. En una modalidad, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador 3xG4S. En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico es un enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2x G4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico es un enlazador G4S. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 y el scFv o sdAb anti-CD33 están separados por un tercer enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el tercer enlazador polipeptídico es un enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el tercer enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2x G4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos. En una modalidad, el tercer enlazador polipeptídico es un enlazador G4S.

En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 45. En una modalidad, un polipéptido transmembrana CD4 comprende una

secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 45. En una modalidad, el polipéptido CD4 intracelular truncado comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 48. En una modalidad, el polipéptido CD4 intracelular truncado comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 49. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CLL1 y anti-CD33 son cada uno un sdAb. En algunas modalidades, el sdAb es un VHH, nanocuerpo, o anticuerpo solo de cadenas pesadas (HcAb) de camélido. En una modalidad, el sdAb es un VHH de camélido. En algunas modalidades, el scFv o el sdAb es humano o humanizado. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 como se expone en las SEQ ID NO: 92, 93, y 94, respectivamente. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende una secuencia como se expone en la SEQ ID NO: 75. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CD33 comprende secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 como se expone en las SEQ ID NO: 89, 90, y 91, respectivamente. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CD33 comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CD33 comprende una secuencia como se expone en la SEQ ID NO: 72.

En algunas modalidades, el componente de señalización comprende además una secuencia señal. En algunas modalidades, la secuencia señal es una secuencia señal CD8. En algunas modalidades, la secuencia señal CD8 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 96. En una modalidad, la secuencia señal CD8 comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 96. En algunas modalidades, el componente de direccionamiento comprende además una secuencia señal. En algunas modalidades, la secuencia señal es una secuencia señal IgK. En algunas modalidades, la secuencia señal IgK comprende una secuencia de

aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En una modalidad, la secuencia señal IgK comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 95. En algunas modalidades, el componente de señalización comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En una modalidad, el componente de señalización comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 111. En algunas modalidades, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 122. En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 122.

En algunas modalidades, el polipéptido de fusión comprende un polipéptido de fusión que comprende el componente de direccionamiento y el componente de señalización. En algunas modalidades, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 151.

En algunas modalidades, la señal de escisión polipeptídica es un polipéptido de autoescisión viral. En algunas modalidades, la señal de escisión polipeptídica es un polipéptido 2A de autoescisión viral.

En un aspecto, la descripción proporciona una molécula de ácido nucleico que codifica cualquiera de los polipéptidos de fusión descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona una célula que comprende cualquiera de los polipéptidos de fusión descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona una célula que comprende cualquiera de las moléculas de ácido nucleico descritas en la presente descripción.

En algunas modalidades, la célula expresa además un factor coestimulador exógeno, un factor inmunomodulador, un agonista para un factor coestimulador, un antagonista para un

factor inmunosupresor, un acoplador de células inmunitarias, un receptor de flip, o cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, la célula expresa además un receptor o correceptor de linfocitos exógeno. En algunas modalidades, el receptor o correceptor de linfocitos exógeno se selecciona del grupo que consiste en: TCR alfa (TCR α), TCR beta (TCR β), TCR gamma (TCR γ), TCR delta (TCR δ), CD4, CD8, prerreceptor de células T α (pT α), receptor Fc alfa (FcR α), receptor Fc beta (FcR β), receptor Fc gamma (FcR γ), miembro D del grupo 2 de células asesinas naturales (NKG2D), CD79A, CD79B, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, la célula expresa además un TCR exógeno. En algunas modalidades, el TCR exógeno se une a un antígeno diana seleccionado del grupo que consiste en: α -fetoproteína (AFP), miembros de la familia de antígenos de melanoma B (BAGE), hermano del regulador de sitios impresos (BORIS, por sus siglas en inglés), antígenos cancerosos-testiculares, antígeno canceroso-testicular 83 (CT-83), anhidrasa carbónica IX (CA1X), antígeno carcinoembrionario (CEA, por sus siglas en inglés), antígenos de citomegalovirus (CMV), antígeno o melanoma reconocido por célula T citotóxica (CTL) (CAMEL), antígenos del virus de Epstein-Barr (EBV, por sus siglas en inglés), antígeno G 1 (GAGE-1), GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7B, GAGE-8, glicoproteína 100 (GP100), antígenos del virus de la hepatitis B (HBV, por sus siglas en inglés), proteína no estructural 3 (NS3, por sus siglas en inglés) del virus de la hepatitis C (HCV, por sus siglas en inglés), receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER-2), papilomavirus humano (HPV)-E6, HPV-E7, telomerasa transcriptasa inversa humana (hTERT), IGF2BP3/A3, K-Ras, K-Ras G12C, K-Ras G12D, K-Ras G12V, proteína de membrana latente 2 (LMP2, por sus siglas en inglés), familia de antígenos del melanoma A 1 (MAGE-A1), MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A10, MAGE-A12, antígeno de melanoma reconocido por células T (MART-1), mesotelina (MSLN), mucina 1 (MUC1), mucina 16 (MUC16), carcinoma de células escamosas esofágicas de Nueva York 1 (NYESO-1), P53, miembros de la familia de antígenos P (PAGE), específico de la placenta 1 (PLAC1), antígeno expresado preferencialmente en el

melanoma (PRAME), survivina, sarcoma sionvial X 1 (SSX1), sarcoma sionvial X 2 (SSX2), sarcoma sionvial X 3 (SSX3), sarcoma sionvial X 4 (SSX4), sarcoma sionvial X 5 (SSX5), sarcoma sionvial X 8 (SSX8), tiroglobulina, tirosinasa, proteína relacionada con la tirosinasa (TRP)1, TRP2, proteína del tumor de Wilms (WT-1), miembro 1 de la familia de antígenos X (XAGE1), y miembro 2 de la familia de antígenos X (XAGE2). En algunas modalidades, el TCR exógeno es un $\alpha\beta$ -TCR o $\gamma\delta$ -TCR.

En algunas modalidades, la célula expresa además un CAR, CCR, o receptor de flip. En algunas modalidades, la célula expresa además una zetacina, un acoplador de células inmunitarias, o un BiTE. En algunas modalidades, la célula es una célula hematopoyética. En algunas modalidades, la célula es una célula T, una célula $\alpha\beta$ -T, o una célula $\gamma\delta$ -T. En algunas modalidades, la célula es una célula CD3⁺, CD4⁺, y/o CD8⁺. En algunas modalidades, la célula es una célula efectora inmunitaria. En modalidades adicionales, la célula es un linfocito T citotóxico (CTL, por sus siglas en inglés), un linfocito infiltrante de tumor (TIL, por sus siglas en inglés), o una célula T cooperadora. En modalidades adicionales, la célula es una célula asesina natural (NK, por sus siglas en inglés) o una célula T asesina natural (NKT, por sus siglas en inglés). En modalidades particulares, la fuente de la célula son las células mononucleares de sangre periférica, la médula ósea, el tejido de los nodos linfáticos, la sangre de cordón, el tejido del timo, el tejido de un sitio de infección, la ascitis, la efusión pleural, el tejido del bazo, o los tumores. En una modalidad, la célula es una célula aislada. En una modalidad, la célula se obtiene de un sujeto. En una modalidad la célula es una célula humana.

En un aspecto, se describe en la presente descripción un complejo polipeptídico, que comprende un componente de señalización que comprende (i) un primer dominio de multimerización que comprende un polipéptido FRB o variante de este o un polipéptido FKBP o variante de este, (ii) un primer enlazador polipeptídico, y (iii) un polipéptido CD3 ϵ o variante de este; y un componente de direccionamiento que comprende (i) un scFv o anticuerpo de dominio único (sdAb) anti-CLL1, (ii) un scFv o anticuerpo de dominio único (sdAb) anti-CD33, (iii) un

segundo enlazador polipeptídico, (iv) un segundo dominio de multimerización que comprende un polipéptido FRB o variante de este o un polipéptido FKBP o variante de este, (v) un polipéptido bisagra CD4, (vi) un polipéptido transmembrana CD4, y (vii) un polipéptido intracelular CD4 truncado.

- 5 En algunas modalidades, el componente de direccionamiento no comprende un dominio intracelular funcional o dominio coestimulador que tenga capacidades de señalización. En algunas modalidades, el polipéptido bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 41. En algunas modalidades, un polipéptido bisagra CD4 comprende una secuencia de
- 10 aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 41. En algunas modalidades, el polipéptido CD3ε comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 32. En una modalidad, un polipéptido CD3ε comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 32. En algunas modalidades, el polipéptido CD3ε comprende porciones extracelulares e intracelulares.
- 15 En algunas modalidades, los polipéptidos FRB y FKBP se localizan extracelularmente cuando se expresan los componentes de señalización y direccionamiento. En algunas modalidades, el primer y segundo dominios de multimerización son diferentes. En algunas modalidades, el primer dominio de multimerización comprende un polipéptido FRB o variante de este, y el segundo dominio de multimerización comprende un polipéptido FKBP12 o variante de
- 20 este. En algunas modalidades, el primer dominio de multimerización comprende un polipéptido FKBP12 o variante de este, y el segundo dominio de multimerización comprende un polipéptido FRB o variante de este. En una modalidad, el polipéptido FRB es una variante FRB T2098L. En algunas modalidades, el polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, identidad con o que comprende una secuencia
- 25 expuesta como la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, el polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, identidad

con o que comprende una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 2. En algunas modalidades, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de identidad con, o comprende la secuencia expuesta como SEQ ID NO: 3. En algunas modalidades, el polipéptido FKBP12 comprende una
5 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de identidad con, o comprende la secuencia expuesta como SEQ ID NO: 4.

En algunas modalidades, los dominios de multimerización del componente de señalización y el componente de direccionamiento se asocian con un factor de formación de puentes. En algunas modalidades, el factor de formación de puentes se selecciona del grupo
10 que consiste en: rapamicina o un rapálogo de esta, giberelina o un derivado de esta, ácido abscísico (ABA) o un derivado de este, metotrexato o un derivado de este, ciclosporina A o un derivado de esta, FK506/ciclosporina A o un derivado de esta, ligando sintético de trimetoprima (Tmp) para la proteína de unión a FK506 (FKBP) (SLF) o un derivado de este, en donde el factor de formación de puentes promueve la formación de un complejo polipeptídico,
15 con el factor de formación de puentes asociado con y dispuesto entre los dominios de multimerización de los componentes de señalización y direccionamiento. En algunas modalidades, el factor de formación de puentes es AP1903, AP20187, AP21967 (también conocido como C16-(S)-7-metilindolrapamicina), everolimus, novolimus, pimecrolimus, ridaforolimus, sirolimus, tacrolimus, temsirolimus, umirolimus, zotarolimus, o BPC015. En
20 algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2xG4S, 3xG4S, 4xG4S, 5xG4S, y cualquier combinación de estos. En una modalidad, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador 3xG4S. En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico es un
25 enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS,

SGG, G4S, 2x G4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos. En una modalidad, el segundo enlazador polipeptídico es un enlazador G4S. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 y el scFv o sdAb anti-CD33 están separados por un tercer enlazador polipeptídico. En algunas modalidades, el tercer enlazador polipeptídico es un enlazador de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el tercer enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2x G4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos. En una modalidad, el tercer enlazador polipeptídico es un enlazador G4S.

En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 45. En una modalidad, un polipéptido transmembrana CD4 comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 45. En una modalidad, el polipéptido CD4 intracelular truncado comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 48. En una modalidad, el polipéptido CD4 intracelular truncado comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 49.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CLL1 y anti-CD33 son cada uno un sdAb. En algunas modalidades, el sdAb es un VHH, nanocuerpo, o anticuerpo solo de cadenas pesadas (HcAb) de camélido. En una modalidad, el sdAb es un VHH de camélido. En algunas modalidades, el scFv o el sdAb es humano o humanizado. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 como se expone en las SEQ ID NO: 92, 93, y 94, respectivamente. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CLL1 comprende una secuencia como se expone en la SEQ ID NO: 75. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CD33 comprende secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 como se expone en las SEQ ID NO: 89, 90, y 91, respectivamente. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-

CD33 comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En algunas modalidades, el scFv o sdAb anti-CD33 comprende una secuencia como se expone en la SEQ ID NO: 72.

En algunas modalidades, el componente de señalización comprende además una

5 secuencia señal. En algunas modalidades, la secuencia señal es una secuencia señal CD8. En algunas modalidades, la secuencia señal CD8 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 96. En una modalidad, la secuencia señal CD8 comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 96. En algunas modalidades, el componente de direccionamiento comprende

10 además una secuencia señal. En algunas modalidades, la secuencia señal es una secuencia señal IgK. En algunas modalidades, la secuencia señal IgK comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En una modalidad, la secuencia señal IgK comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 95. En algunas modalidades, el componente de

15 señalización comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En una modalidad, el componente de señalización comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 111. En algunas modalidades, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 122. En

20 una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 122. En algunas modalidades, el complejo polipeptídico comprende un polipéptido de fusión que comprende el componente de direccionamiento y el componente de señalización. En algunas modalidades, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad,

25 el polipéptido de fusión comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 151.

En un aspecto, la descripción proporciona una molécula de ácido nucleico que codifica tanto el componente de señalización como el componente de direccionamiento de cualquiera de los complejos polipeptídicos descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona una célula que comprende cualquiera de los complejos polipeptídicos descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona una célula que comprende cualquiera de las moléculas de ácido nucleico descritas en la presente descripción.

En algunas modalidades, la célula expresa además un factor coestimulador exógeno, un factor inmunomodulador, un agonista para un factor coestimulador, un antagonista para un factor inmunosupresor, un acoplador de células inmunitarias, un receptor de flip, o cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, la célula expresa además un receptor o correceptor de linfocitos exógeno. En algunas modalidades, el receptor o correceptor de linfocitos exógeno se selecciona del grupo que consiste en: TCR alfa (TCR α), TCR beta (TCR β), TCR gamma (TCR γ), TCR delta (TCR δ), CD4, CD8, prerreceptor de células T α (pT α), receptor Fc alfa (FcR α), receptor Fc beta (FcR β), receptor Fc gamma (FcR γ), miembro D del grupo 2 de células asesinas naturales (NKG2D), CD79A, CD79B, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, la célula expresa además un TCR exógeno. En algunas modalidades, el TCR exógeno se une a un antígeno diana seleccionado del grupo que consiste en: α -fetoproteína (AFP), miembros de la familia de antígenos de melanoma B (BAGE), hermano del regulador de sitios impresos (BORIS, por sus siglas en inglés), antígenos cancerosos-testiculares, antígeno canceroso-testicular 83 (CT-83), anhidrasa carbónica IX (CA1X), antígeno carcinoembrionario (CEA, por sus siglas en inglés), antígenos de citomegalovirus (CMV), antígeno o melanoma reconocido por célula T citotóxica (CTL) (CAMEL), antígenos del virus de Epstein-Barr (EBV, por sus siglas en inglés), antígeno G 1 (GAGE-1), GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7B, GAGE-8, glicoproteína 100 (GP100), antígenos del virus de la hepatitis B (HBV, por sus siglas en inglés), proteína no

estructural 3 (NS3, por sus siglas en inglés) del virus de la hepatitis C (HCV, por sus siglas en inglés), receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER-2), papilomavirus humano (HPV)-E6, HPV-E7, telomerasa transcriptasa inversa humana (hTERT), IGF2BP3/A3, K-Ras, K-Ras G12C, K-Ras G12D, K-Ras G12V, proteína de membrana latente 2 (LMP2, por sus siglas en inglés), familia de antígenos del melanoma A 1 (MAGE-A1), MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A10, MAGE-A12, antígeno de melanoma reconocido por células T (MART-1), mesotelina (MSLN), mucina 1 (MUC1), mucina 16 (MUC16), carcinoma de células escamosas esofágicas de Nueva York 1 (NYESO-1), P53, miembros de la familia de antígenos P (PAGE), específico de la placenta 1 (PLAC1), antígeno expresado preferencialmente en el melanoma (PRAME), survivina, sarcoma sionvial X 1 (SSX1), sarcoma sionvial X 2 (SSX2), sarcoma sionvial X 3 (SSX3), sarcoma sionvial X 4 (SSX4), sarcoma sionvial X 5 (SSX5), sarcoma sionvial X 8 (SSX8), tiroglobulina, tirosinasa, proteína relacionada con la tirosinasa (TRP)1, TRP2, proteína del tumor de Wilms (WT-1), miembro 1 de la familia de antígenos X (XAGE1), y miembro 2 de la familia de antígenos X (XAGE2). En algunas modalidades, el TCR exógeno es un $\alpha\beta$ -TCR o $\gamma\delta$ -TCR.

En algunas modalidades, la célula expresa además un CAR, CCR, o receptor de flip. En algunas modalidades, la célula expresa además una zetacina, un acoplador de células inmunitarias, o un BiTE. En modalidades adicionales, la célula es una célula hematopoyética. En algunas modalidades, la célula es una célula T, una célula $\alpha\beta$ -T, o una célula $\gamma\delta$ -T. En algunas modalidades, la célula es una célula CD3⁺, CD4⁺, y/o CD8⁺. En algunas modalidades, la célula es una célula efectora inmunitaria. En modalidades adicionales, la célula es un linfocito T citotóxico (CTL, por sus siglas en inglés), un linfocito infiltrante de tumor (TIL, por sus siglas en inglés), o una célula T cooperadora. En modalidades adicionales, la célula es una célula asesina natural (NK, por sus siglas en inglés) o una célula T asesina natural (NKT, por sus siglas en inglés). En modalidades particulares, la fuente de la célula son las células mononucleares de sangre periférica, la médula ósea, el tejido de los nodos linfáticos, la sangre

de cordón, el tejido del timo, el tejido de un sitio de infección, la ascitis, la efusión pleural, el tejido del bazo, o los tumores. En una modalidad, la célula es una célula aislada. En una modalidad, la célula se obtiene de un sujeto. En una modalidad, la célula es una célula humana.

En un aspecto, la descripción proporciona un polinucleótido que codifica el componente de señalización y direccionamiento de cualquiera de los polipéptidos de fusión o complejos polipeptídicos descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un ADNc que codifica el componente de señalización y de direccionamiento de cualquiera de los polipéptidos de fusión o complejos polipeptídicos descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un ARN que codifica cualquiera de los componentes de señalización y de direccionamiento, o cualquiera de los polipéptidos de fusión, o cualquiera de los complejos polipeptídicos descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un vector que comprende cualquiera de los polinucleótidos descritos en la presente descripción.

En algunas modalidades, el vector es un vector de expresión. En una modalidad, el vector es un transposón. En algunas modalidades, el vector es un transposón piggyBAC o un transposón Sleeping Beauty. En algunas modalidades, el vector es un vector viral. En algunas modalidades, el vector es un vector adenoviral, un vector viral adenoasociado (AAV, por sus siglas en inglés), un vector del virus del herpes, un vector del virus vacuna o un vector retroviral.

En algunas modalidades, el vector retroviral es un vector lentiviral. En algunas modalidades, el vector lentiviral se selecciona del grupo que consiste en: virus de inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1); virus de inmunodeficiencia humana 2 (VIH-2), virus visna-maedi (VMV); virus de la artritis-encefalitis caprina (CAEV); virus de la anemia infecciosa equina (EIAV); virus de inmunodeficiencia felina (FIV); virus de la inmunodeficiencia bovina (BIV); y el virus de la inmunodeficiencia simia (SIV).

En un aspecto, la descripción proporciona una célula que comprende cualquiera de los polipéptidos de fusión, polinucleótidos, o los vectores descritos en la presente descripción.

En modalidades adicionales, la célula es una célula hematopoyética. En algunas modalidades, la célula es una célula efectora inmunitaria. En algunas modalidades, la célula es una célula T, una célula $\alpha\beta$ -T, o una célula $\gamma\delta$ -T. En algunas modalidades, la célula expresa CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, o una combinación de estos. En modalidades adicionales, la célula es un linfocito T citotóxico (CTL, por sus siglas en inglés), un linfocito infiltrante de tumor (TIL, por sus siglas en inglés), o una célula T cooperadora. En modalidades adicionales, la célula es una célula asesina natural (NK, por sus siglas en inglés) o una célula T asesina natural (NKT, por sus siglas en inglés).

En un aspecto, la descripción proporciona una composición que comprende cualquiera de las células o vectores descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona una composición que comprende un portador fisiológicamente aceptable y cualquiera de las células o vectores descritos en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para tratar un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de una cualquiera de las composiciones descritas en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para tratar, prevenir o mejorar al menos un síntoma de un cáncer, enfermedad infecciosa, enfermedad autoinmune, enfermedad inflamatoria e inmunodeficiencia, o afección asociada con la misma, que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de una cualquiera de las composiciones descritas en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para tratar un cáncer sólido que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de una cualquiera de las composiciones descritas en la presente descripción.

En algunas modalidades, el cáncer sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón, carcinoma de células escamosas, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, cáncer de cuello uterino, cáncer de esófago, cáncer de ovario, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, o cáncer de cerebro. En

5 algunas modalidades, el cáncer sólido es un carcinoma de células no pequeñas escamosas, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, cáncer de cuello uterino, cáncer de esófago, cáncer de ovario, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, gliomas, glioblastomas, o oligodendroglioma.

10 En un aspecto, la descripción proporciona un método para tratar una neoplasia maligna hematológica que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de una cualquiera de las composiciones descritas en la presente descripción. En algunas modalidades, la neoplasia maligna hematológica es una leucemia, linfoma, o mieloma múltiple. En una modalidad, la neoplasia maligna hematológica es leucemia mielógena aguda (AML, por sus siglas en inglés).

15 **BREVE DESCRIPCIÓN DE VARIAS VISTAS DE LOS DIBUJOS**

Las **Figuras 1A-1H** muestran la arquitectura de receptores inmunitarios y constructos de fusión modificados genéticamente representativos. En particular, las **Figuras 1A-1C** representan constructos de expresión y componentes de algunos receptores inmunitarios y constructos de fusión modificados genéticamente ilustrativos de la invención. Las **Figuras 1D-**
20 **1H** son dibujos que representan cómo los receptores inmunitarios modificados genéticamente representativos que comprenden un componente de señalización y un componente de direccionamiento pueden formar un complejo con un receptor inmunitario (por ejemplo, un TCR) para activar la señalización del receptor cuando está presente una célula diana que expresa el antígeno diana, y, en ciertas modalidades, cuando está presente un factor de formación de
25 puentes. Como un ejemplo no limitante, en la **Figura 1D**, el constructo SR022/SR001 comprende un componente de señalización que comprende un dominio de multimerización

FRB, un enlazador, y un dominio accionador CD3 ϵ ; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio transmembrana de CD4, una bisagra CD4, un dominio de multimerización FKBP, un enlazador, y un dominio de direccionamiento VHH CD33. Cuando está presente una célula que expresa CD33, el dominio de direccionamiento VHH CD33 se une a la célula diana, poniéndola en estrecho contacto con la célula inmunitaria que expresa el receptor inmunitario modificado genéticamente, por ejemplo, una célula T. Cuando está presente un factor de formación de puentes, los dominios de multimerización interactúan entonces, lo que permite que el componente de señalización active el receptor inmunitario (por ejemplo, TCR).

10 La **Figura 2** muestra la intensidad de fluorescencia mediana y el porcentaje positivo de los componentes SR024 en las células T medidos mediante citometría de flujo.

La **Figura 3** muestra la secreción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF de células no transducidas y células T SR024 cocultivadas con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33 y en presencia de rapamicina.

15 La **Figura 4** muestra la secreción de IFN γ a partir de células no transducidas y células T SR024 cultivadas solas, con y sin rapamicina.

Las **Figuras 5A y 5B** muestran la citotoxicidad y proliferación, respectivamente, de las células de control y células T SR024, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33.

20 La **Figura 6** muestra la intensidad de fluorescencia mediana y el porcentaje positivo de los componentes SR020, SR022, y SR024 en las células T medidos mediante citometría de flujo.

La **Figura 7A** muestra la secreción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF de células no transducidas, células T SR020, células T SR022, y células T SR024, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33 y en presencia de rapamicina.

25

La **Figura 7B** muestra la secreción de IFN γ de células no transducidas, células T SR020, células T SR022, y células T SR024, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta, media, y baja expresión de CD33, y en presencia de rapamicina.

La **Figura 7C** muestra la secreción de IL2 de células no transducidas, células T SR020, células T SR022, y células T SR024, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta, media, y baja expresión de CD33, y en presencia de rapamicina.

La **Figura 8** muestra la secreción de IFN γ de células no transducidas, células T SR020, células T SR022, y células T SR024 solas, con y sin rapamicina.

Las **Figuras 9A y 9B** muestran la citotoxicidad y proliferación, respectivamente, de las células de control, células T SR020, células T SR022, y células T SR024, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33.

La **Figura 10** muestra la intensidad de fluorescencia mediana y el porcentaje positivo de los componentes SR021 en las células T medidos mediante citometría de flujo.

La **Figura 11** muestra la secreción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF de células no transducidas y células T SR021 cocultivadas con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33 y en presencia de rapamicina.

La **Figura 12** muestra la secreción de IFN γ de células no transducidas y células T SR021 cocultivadas con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33, solas con y sin rapamicina.

Las **Figuras 13A y 13B** muestran citotoxicidad y proliferación, respectivamente, de las células de control y células T SR021 cocultivadas con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33.

La **Figura 14** muestra la intensidad de fluorescencia mediana y el porcentaje positivo de los componentes SR022 y SR001 en las células T medidos mediante citometría de flujo.

La **Figura 15** muestra la secreción de IFN γ , IL2, y TNF de células no transducidas, células T SR022 y células T SR001, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33, y en presencia de rapamicina.

La **Figura 16** muestra la secreción de IFN γ de células no transducidas, células T SR022 y células T SR001, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33, con y sin rapamicina.

Las **Figuras 17A y 17B** muestran la citotoxicidad y proliferación, respectivamente, de las células de control y células T SR001, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33.

La **Figura 18** muestra la intensidad de fluorescencia mediana y el porcentaje positivo de los componentes SR028 en las células T medidos mediante citometría de flujo.

La **Figura 19** muestra la secreción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF de células no transducidas y células T SR028 cocultivadas con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33 y en presencia de rapamicina.

La **Figura 20** muestra la secreción de IFN γ de células no transducidas y células T SR028 cocultivadas con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33, con y sin rapamicina.

Las **Figuras 21A y 21B** muestran la citotoxicidad y proliferación, respectivamente, de las células de control y células T SR028, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33.

La **Figura 22** muestra la intensidad de fluorescencia mediana y el porcentaje positivo de los componentes SR004 y SR006 en las células T medidos mediante citometría de flujo.

La **Figura 23** muestra la secreción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF de células no transducidas, células T SR004 y células T SR006, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33, y en presencia de rapamicina.

La **Figura 24** muestra la secreción de IFN γ de células no transducidas, células T SR004 y células T SR006, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33, con y sin rapamicina.

5 Las **Figuras 25A y 25B** muestran la citotoxicidad y proliferación, respectivamente, de las células de control, células T SR004, células T SR006, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33.

Las **Figuras 26A y 26B** muestran el porcentaje positivo y la intensidad de fluorescencia mediana de los componentes SR008 y SR030 en las células T medidos mediante citometría de flujo.

10 Las **Figuras 26C y 26D** muestran los fenotipos de las células T CD4 $^{+}$ y CD8 $^{+}$ transducidas con vectores que codifican los constructos indicados.

Las **Figuras 27A y 27B** muestran la secreción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF de células no transducidas, células T SR008, y células T SR030, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33 o una línea celular cancerosa con alta expresión de CLL1, y en presencia de rapamicina.

La **Figura 27C** muestra la secreción de IFN γ de células no transducidas, células T SR008 y células T SR030 solas, con o sin rapamicina.

20 Las **Figuras 28A y 28B** muestran la citotoxicidad de células no transducidas, células T SR008, y células T SR030, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33 o una línea celular cancerosa con alta expresión de CLL1, respectivamente.

La **Figura 29** muestra la intensidad de fluorescencia mediana y el porcentaje positivo de los componentes SR001 y SR001-28 en las células T medidos mediante citometría de flujo.

25 La **Figura 30** muestra la secreción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF de células no transducidas, células T SR001 y células T SR001-28, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33, y en presencia de rapamicina.

Las **Figuras 31A y 31B** muestran la citotoxicidad y proliferación, respectivamente, de las células de control, células T SR001, células T SR001-28, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33.

Las **Figuras 32A y 32B** muestran el crecimiento tumoral *in vivo* en xenoinjertos de ratón NSG y el control después de la administración de 10E6 SR001 ± 41BB o dominios de coestimulación de CD28. Todo el control tumoral está regulado por rapamicina.

Las **Figuras 32C y 32D** muestran el crecimiento tumoral *in vivo* en xenoinjertos de ratón NSG y el control después de la administración de 3E6 SR001±41BB o dominios de coestimulación de CD28 con rapamicina presente.

Las **Figuras 33A y 33B** muestran el porcentaje positivo y la intensidad de fluorescencia mediana de SR022 ± dominios de señalización del correceptor CD4 o CD8 medidos mediante citometría de flujo.

La **Figura 34** muestra la secreción de IFN γ e IL2 de células no transducidas, células T SR022 ± dominios de señalización del correceptor CD4 o CD8, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con alta expresión de CD33, con o sin rapamicina.

Las **Figuras 35A-35C** muestran el número de copias del vector, el porcentaje positivo y la intensidad de fluorescencia de media geométrica de un tetrámero y tinción de cadena de TCR beta de un TCR no transducido, un TCR transgénico, SR001, o la combinación de un TCR transgénico y SR001 según se mide por citometría de flujo.

Las **Figuras 35D y 35E** muestran el porcentaje positivo y la intensidad de fluorescencia de media geométrica de una tinción anti-VHH de un TCR no transducido, un TCR transgénico, SR001, o la combinación de un TCR transgénico y SR001 según se mide por citometría de flujo.

Las **Figuras 36A y 36B** muestran la secreción de IFN γ , IL2 y TNF α de células no transducidas, TCR transgénico, SR001, o la combinación de un TCR transgénico y SR001, cada uno cocultivado con una línea celular cancerosa con alta expresión de HLA-A2+ TCR epítipo+ o CD33+ y en ausencia y presencia de rapamicina.

La **Figura 36C** muestra la citotoxicidad de células no transducidas, células de TCR transgénico, células T SR001, o la combinación de TCR transgénico y SR001, cocultivadas con líneas celulares cancerosas con alta expresión de HLA-A2+ TCR epítipo+ o CD33+ en ausencia o presencia de rapamicina.

5 Las **Figuras 37A y 37B** muestran la secreción de IL2 de células no transducidas o SR001, cada una cocultivada con una línea celular cancerosa con expresión muy baja de CD33 o CLL1 en presencia de rapamicina.

La **Figura 38** muestra el crecimiento tumoral *in vivo* en xenoinjertos de ratón NSG y el control después de la administración de 10E6 SR007 o células T con CAR reguladas por un comparador (dirigidas a CD33 o CLL1). Todo el control tumoral está regulado por rapamicina.

Las **Figuras 39A-39C** muestran el número de copias del vector, el porcentaje positivo de tinción de FRB y VHH para la expresión en ausencia o presencia de rapamicina.

Las **Figuras 40A y 40B** muestran la secreción de IFN γ de las células T SR10167 o SR10168 solas $\pm$ rapamicina, en comparación con los controles con CAR regulados.

15 Las **Figuras 41A y 41B** muestran la secreción de IFN γ de las células T SR10167 o SR10168 $\pm$ rapamicina, en comparación con los controles con CAR regulados, cuando se cultivan con una línea celular diana CD19+.

Las **Figuras 42A-42D** muestran la secreción de IL2 y TNF α de las células T SR10167 o SR10168 $\pm$ rapamicina, en comparación con los controles con CAR regulados, cuando se cultivan con una línea celular diana CD19+.

Las **Figuras 43A y 43B** muestran la citotoxicidad del control, las células T SR10167, y las células T del comparador con CAR reguladas, cada una cocultivada con las líneas celulares CD19+ Jeko-1 o Daudi. Todo el control tumoral está regulado por rapamicina.

La **Figura 44** muestra dibujos de receptores inmunitarios modificados genéticamente constitutivamente activos (no regulables) y constructos de fusión representativos.

25

Las **Figuras 45A y 45B** muestran el porcentaje positivo y la intensidad de fluorescencia mediana de tinción VHH de la expresión de SR292, SR293, SR296, SR001 y moléculas comparadoras relevantes que incluyen un comparador de arquitectura basado en CAR no regulado, CAR regulado y TCR no regulado.

5 Las **Figuras 46A y 46B** muestran la secreción de IFN γ e IL2 de SR292, SR293, SR296, SR001 y moléculas comparadoras relevantes que incluyen un comparador de arquitectura basado en CAR no regulado, CAR regulado y TCR no regulado, cuando se cultivan con una línea celular diana CD33+.

10 La **Figura 47** muestra la secreción de IFN γ de células T solas que expresan SR292, SR293, SR296, SR001 y moléculas comparadoras relevantes que incluyen un comparador de arquitectura basado en CAR no regulado, CAR regulado, y TCR no regulado.

Las **Figuras 48A y 48B** muestran citotoxicidad y proliferación de células T de control, SR292, SR293, SR296 y un CAR no regulado, después del cocultivo con una línea diana CD33+.

15 La **Figura 49** muestra el porcentaje positivo y la intensidad de fluorescencia mediana de la tinción de FRB para la expresión de SR001 $\pm$ IL7-receptor- α , cadena γ y común, IL2-receptor- β , o tanto cadena γ y común como IL2-receptor- β .

20 Las **Figuras 50A-50D** muestran la secreción de IFN γ e IL2 de SR001 $\pm$ IL7-receptor- α , cadena γ y común, IL2-receptor- β , o tanto cadena γ y común como IL2-receptor- β , cuando se cultivan con una línea celular diana CD33+ con y sin rapamicina.

La **Figura 51** muestra la proliferación de células T de control o SR001 $\pm$ IL7-receptor- α , cadena γ y común, IL2-receptor- β , o tanto cadena γ y común como IL2-receptor- β , después del cocultivo con una línea diana CD33+.

25 La **Figura 52** muestra la intensidad de fluorescencia mediana de la tinción de FRB o PD-1 de células T que expresan ya sea SR300 (PD1 potenciada por afinidad) o SR301 (PD1 de tipo silvestre).

Las **Figuras 53A-53D** muestran la citotoxicidad de las células T que expresan SR300 o SR301 cuando se cultivan con una línea celular diana PDL1+ o la misma línea celular con PDL1 y PDL2 inactivados, con y sin rapamicina.

5 La **Figura 54** muestra el porcentaje positivo y la intensidad de fluorescencia mediana de la tinción de VHH de la expresión del constructo SR354.

Las **Figuras 55A y 55B** muestran la secreción de IFN γ de células NK que expresan SR354 cuando se cultivan con una línea celular diana CD33+ o la misma línea celular con CD33 inactivada.

10 Las **Figuras 55C y 55D** muestran la citotoxicidad de células NK que expresan SR354 cuando se cultivan con una línea celular diana CD33+ o la misma línea celular con CD33 inactivada.

La **Figura 56** muestra el porcentaje positivo de los componentes SR303 en las células T medido mediante citometría de flujo.

15 Las **Figuras 57A y 57B** muestran la secreción de IFN γ de células SR303 cuando se cultivan con una línea celular diana ROR1+ con y sin rapamicina.

La **Figura 57C** muestra la secreción de IFN γ de células T solas que expresan moléculas SR303.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS IDENTIFICADORES DE SECUENCIA

20 Las **SEQ ID NO: 1-4** exponen las secuencias de aminoácidos de polipéptidos FRB y FKBP12 ilustrativos.

Las **SEQ ID NO: 5-10** exponen las secuencias de aminoácidos de dominios de heterodimerización derivados de anticuerpos ilustrativos.

Las **SEQ ID NO: 11-31** exponen secuencias de aminoácidos de enlaces ilustrativos.

25 Las **SEQ ID NO: 32-40** exponen las secuencias de aminoácidos de dominios accionadores ilustrativos.

Las **SEQ ID NO: 41-44** exponen las secuencias de aminoácidos de los dominios bisagra ilustrativos.

Las **SEQ ID NO: 45-47** exponen las secuencias de aminoácidos de polipéptidos transmembrana ilustrativos.

5 Las **SEQ ID NO: 48 y 49** exponen las secuencias de aminoácidos de polipéptidos CD4 intracelulares truncados ilustrativos. Las **SEQ ID NO: 50-94** exponen las secuencias de aminoácidos de los dominios de direccionamiento ilustrativos.

Las **SEQ ID NO: 95-97** exponen las secuencias de aminoácidos de las secuencias señal ilustrativas.

10 Las **SEQ ID NO: 98-106** exponen las secuencias de aminoácidos de dominios de señalización intracelular ilustrativos.

Las **SEQ ID NO: 107-115** exponen las secuencias de aminoácidos de componentes de señalización ilustrativos.

15 Las **SEQ ID NO: 116-136** exponen las secuencias de aminoácidos de componentes de direccionamiento ilustrativos.

Las **SEQ ID NO: 137 y 138** exponen las secuencias de aminoácidos de componentes de coseñalización ilustrativos.

Las **SEQ ID NO: 139-170** exponen las secuencias de aminoácidos de polipéptidos de fusión ilustrativos.

20 Las **SEQ ID NO: 171-192** exponen las secuencias de aminoácidos de los sitios de escisión de proteasas y los sitios de escisión de polipéptidos autoescindibles.

La **SEQ ID NO: 193** expone una secuencia de aminoácidos del separador.

La **SEQ ID NO: 194** expone una secuencia de aminoácidos de reconocimiento de furina.

25 Las **SEQ ID NO: 195-197** exponen sitios de escisión de proteasas de TEV (virus del grabado del tabaco).

La **SEQ ID NO: 198** expone una secuencia de aminoácidos kozak.

En las secuencias anteriores, X, si está presente, se refiere a cualquier aminoácido o a la ausencia de un aminoácido.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

A. DESCRIPCIÓN GENERAL

5 El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Aunque la terapia de células adoptivas se está utilizando para tratar con éxito algunas neoplasias malignas hematológicas, el tratamiento de tumores sólidos con células T con receptor de antígeno quimérico (CAR, por sus siglas en inglés) y células T que expresan receptores de células T (TCR) contra antígenos tumorales sigue siendo en gran medida ineficaz.

10 Además, aunque se sabe que los TCR son muy sensibles a niveles bajos de antígeno diana, carecen de la capacidad de ver antígenos presentados no MHC. Por otro lado, aunque los CAR pueden modificarse genéticamente para dirigirse a casi cualquier antígeno extracelular a través de sus dominios de unión similares a anticuerpos, generalmente son menos sensibles a niveles bajos de antígeno diana y son propensos a la señalización tónica y/o independiente del antígeno. Además, las células T modificadas genéticamente para expresar un CAR o TCR
15 generalmente carecen de control espacial y temporal de la actividad de las células T y/o demuestran una activación insuficiente de las vías de señalización de las células T.

La falta de control sobre la actividad de las células T modificadas genéticamente puede desencadenar una serie de efectos secundarios, muchos de los cuales comienzan de manera
20 sutil pero pueden empeorar rápidamente. Una complicación particularmente grave es el síndrome de liberación de citocinas (CRS, por sus siglas en inglés) o “tormenta de citocinas”, donde las células T con CAR inducen la liberación de citocinas masiva y potencialmente mortal. El CRS puede producir fiebres peligrosamente altas, fatiga extrema, dificultad para respirar, y una fuerte caída de la presión arterial. El CRS también puede producir una segunda onda de
25 efectos secundarios que involucran al sistema nervioso, que incluyen neurotoxicidad, temblores, dolores de cabeza, confusión, pérdida del equilibrio, problemas para hablar, convulsiones y

alucinaciones. La activación insuficiente de las vías de señalización de células T puede provocar que no se erradique un cáncer y/o conducir a un cáncer que se vuelva resistente al tratamiento. Las composiciones y métodos contemplados en la presente descripción ofrecen soluciones a estos y otros problemas que afectan a las terapias celulares adoptivas.

5 Por lo tanto, la descripción generalmente se refiere a composiciones y métodos mejorados para regular las capacidades de reconocimiento de antígenos, la sensibilidad y/o el control espacial y temporal de las terapias celulares adoptivas mediante el uso de complejos de inmunorreceptores modificados genéticamente que se unen a un antígeno diana seleccionado y que pueden reclutar y activar un complejo de señalización de inmunorreceptores natural o
10 transgénico.

 Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, las composiciones de receptor inmunitario modificadas genéticamente y los métodos contemplados en la presente descripción proporcionan numerosas ventajas sobre las terapias con células T con CAR y células T con TCR existentes en la técnica, que incluyen, pero no se limitan a, el control tanto espacial como
15 temporal sobre las actividades de transducción, unión y señalización de señales de células efectoras inmunitarias, y la activación de vías de señalización sin requerir reconocimiento del complejo MHC. En algunas modalidades, el control temporal ceba la maquinaria del receptor inmunitario modificado genéticamente para la señalización a través de la asociación mediada por el factor de formación de puentes de un componente de direccionamiento a un componente
20 de señalización. En otras modalidades, la maquinaria se ceba mediante la asociación de dominios de multimerización, sin la necesidad de un factor de formación de puentes. El control espacial activa la maquinaria de señalización a través del reconocimiento de un antígeno diana por parte de un dominio extracelular o de direccionamiento de un componente de direccionamiento, mientras que el componente de señalización comprende un dominio
25 accionador que forma un complejo con un receptor inmunitario de linfocitos. De esta manera, las células efectoras inmunitarias activan la señalización del receptor cuando está presente una

célula diana que expresa el antígeno diana y, en ciertas modalidades, cuando está presente un factor de formación de puentes.

En varias modalidades, la descripción contempla componentes de señalización y direccionamiento que generan una respuesta basada en receptores inmunitarios contra células que expresan un antígeno diana sin reconocimiento del antígeno diana del receptor inmunitario natural. En varias modalidades, la descripción contempla componentes de señalización y direccionamiento que generan una respuesta contra el cáncer basada en receptores inmunitarios contra cánceres que expresan un antígeno diana sin necesidad de reconocimiento del complejo MHC del antígeno diana y/o el antígeno diana natural o modificado genéticamente del receptor inmunitario linfocítico.

En modalidades particulares, los complejos de receptores inmunitarios modificados genéticamente incluyen un componente de señalización que comprende un polipéptido de dominio de multimerización o variante de este y un dominio accionador o variante de este (por ejemplo, un polipéptido CD3 ϵ , CD3 δ , CD3 γ , Fc ϵ R1 γ , Ig α /CD79a, Ig β /CD79b, DAP10, o DAP12); y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular que comprende un dominio de direccionamiento que se une a un antígeno diana expresado en una célula diana, un polipéptido de dominio de multimerización o variante de este, un dominio transmembrana, y opcionalmente un dominio bisagra dispuesto entre el dominio de multimerización y el dominio transmembrana. En algunas modalidades, en presencia de un factor de formación de puentes, los componentes de señalización y unión/dirección se asocian entre sí a través del factor de formación de puentes para formar un receptor inmunitario funcionalmente activo. En algunas modalidades, los componentes se asocian sin la necesidad de un factor de formación de puentes.

En modalidades particulares, los dominios de multimerización de los componentes de señalización y direccionamiento se posicionan extracelularmente. La posición extracelular de los dominios de multimerización proporciona numerosas ventajas sobre el posicionamiento

intracelular que incluyen, pero no se limitan a, un posicionamiento más eficiente del dominio de direccionamiento, una mayor sensibilidad temporal a la regulación del factor de formación de puentes y menos toxicidad debido a la capacidad de usar dosis no inmunosupresoras de factores de formación de puentes particulares.

5 En la presente descripción se contemplan polinucleótidos que codifican los receptores inmunitarios modificados genéticamente, componentes de direccionamiento, componentes de señalización, complejos de proteína/polipéptido, y proteínas de fusión; polipéptidos que comprenden los receptores inmunitarios modificados genéticamente, componentes de direccionamiento, componentes de señalización, complejos de proteína/polipéptido, y proteínas de fusión; células que comprenden polinucleótidos que codifican los receptores inmunitarios modificados genéticamente, componentes de direccionamiento, y los componentes de señalización y/o que los expresan; vectores que codifican los receptores inmunitarios modificados genéticamente, componentes de direccionamiento, componentes de señalización, complejos de proteína/polipéptido, y proteínas de fusión; y métodos para usarlos para tratar una enfermedad o trastorno (por ejemplo, cáncer o un trastorno inmunitario).

Técnicas para recombinante (*es decir*, ADN modificado genéticamente), síntesis de péptidos y oligonucleótidos, inmunoensayos, cultivo de tejidos, transformación (*p. ej.*, electroporación, lipofección), reacciones enzimáticas, la purificación y las técnicas y procedimientos relacionados pueden realizarse generalmente como se describe en varias referencias generales y más específicas en microbiología, biología molecular, la bioquímica, genética molecular, biología celular, virología e inmunología como se mencionó y analizó a lo largo de la presente descripción. Ver, por ejemplo, Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3da ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, actualizado en julio de 2008); Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Glover, DNA Cloning: A

Practical Approach, vol. I y II (IRL Press, Oxford Univ. Press USA, 1985); Current Protocols in Immunology (Editado por: John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober 2001 John Wiley & Sons, NY, NY); Real-Time PCR: Current Technology and Applications, editado por Julie Logan, Kirstin Edwards y Nick Saunders, 2009, 5 Caister Academic Press, Norfolk, UK; Anand, Techniques for the Analysis of Complex Genomes, (Academic Press, New York, 1992); Guthrie y Fink, Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology (Academic Press, New York, 1991); Oligonucleotide Synthesis (N. Gait, Ed., 1984); Nucleic Acid The Hybridization (B. Hames & S. Higgins, Eds., 1985); Transcription and Translation (B. Hames & S. Higgins, Eds., 1984); Animal Cell Culture (R. Freshney, Ed., 1986); 10 Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); Next-Generation Genome Sequencing (Janitz, 2008 Wiley-VCH); PCR Protocols (Methods in Molecular Biology) (Park, Ed., 3ra edición, 2010 Humana Press); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller y M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Harlow y Lane, 15 Antibodies, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1998); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, Volúmenes I-IV (D. M. Weir and CC Blackwell, eds., 1986); Roitt, Essential Immunology, 6a edición, (Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988); Current Protocols in Immunology (Q. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, 20 D. H. Margulies, E. M. Shevach y W. Strober, eds., 1991); Annual Review of Immunology; así como monografías en revistas como Advances in Immunology.

B. DEFINICIONES

Antes de exponer esta descripción con más detalle, puede ser útil para comprenderla proporcionar definiciones de ciertos términos que se usarán en la presente descripción.

25 A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen el mismo significado que el entendido

comúnmente por los expertos en la técnica a la que pertenece la invención. Aunque cualquiera de los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente descripción puede usarse en la práctica o prueba de modalidades particulares, las modalidades preferidas de composiciones, métodos y materiales se describen en la presente descripción. Para los
5 propósitos de la presente descripción, los siguientes términos se definen a continuación.

Los artículos "un", "una" y "el/la" se usan en la presente descripción para referirse a uno o a más de uno (es decir, a al menos uno, o a uno o más) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o uno o más elementos.

Debe entenderse que el uso de la alternativa (por ejemplo, "o") significa una, ambas o
10 cualquiera de sus combinaciones de alternativas.

Debe entenderse que el término "y/o" significa una o ambas alternativas.

Como se usa en la presente, el término "alrededor de" o "aproximadamente" se refiere a una cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud que varía hasta en un 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % con
15 respecto a una cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud de referencia. En una modalidad, el término "alrededor de" o "aproximadamente" se refiere a un intervalo de cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 9\%$, $\pm 8\%$, $\pm 7\%$, $\pm 6\%$, $\pm 5\%$, $\pm 4\%$, $\pm 3\%$, $\pm 2\%$ o $\pm 1\%$ sobre una cantidad de referencia, nivel, valor,
20 número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud.

En algunas modalidades, un intervalo, por ejemplo, 1 a 5, aproximadamente 1 a 5, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 5, se refiere a cada valor numérico abarcado por el intervalo. Por ejemplo, en una modalidad no limitante y simplemente ilustrativa, el intervalo "1 a 5" es equivalente a la expresión 1, 2, 3, 4, 5; o 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, o 5.0; o 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, o 5.0.

Como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente" se refiere a una cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud que es 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o superior en comparación con una cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje,

5 dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud de referencia. En una modalidad, "sustancialmente la misma" se refiere a una cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud que produce un efecto, *por ejemplo*, un efecto fisiológico, que es aproximadamente el mismo que una cantidad, nivel, valor, número, frecuencia, porcentaje, dimensión, tamaño, cantidad, peso o longitud de referencia.

10 A lo largo de esta descripción, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que las palabras "comprenden", "comprende" y "comprender" implican la inclusión de una etapa o elemento o grupo de etapas o elementos expresados pero no la exclusión de cualquier otra etapa o elemento o grupo de etapas o elementos. Por "que consiste en" se entiende que incluye, y se limita a, lo que sigue a la frase "que consiste en". Por lo tanto, la

15 frase "que consiste en" indica que los elementos enumerados son necesarios u obligatorios, y que no pueden estar presentes otros elementos. Por "que consiste esencialmente en" se entiende incluir cualquier elemento enumerado después de la frase, y limitado a otros elementos que no interfieren o contribuyen a la actividad o acción especificada en la descripción para los elementos enumerados. Por lo tanto, la frase "que consiste esencialmente en" indica

20 que los elementos enumerados son necesarios u obligatorios, pero que no hay otros elementos presentes que afecten materialmente la actividad o acción de los elementos enumerados.

La referencia a lo largo de esta descripción a "una modalidad", "una modalidad particular", "una modalidad relacionada", "una modalidad determinada", "una modalidad adicional" o "otra modalidad" o sus combinaciones significa que una característica, estructura o

25 característica particular descrita en relación con la modalidad se incluye en al menos una modalidad. Por lo tanto, la aparición de las frases anteriores en varios lugares a lo largo de esta

descripción no necesariamente se refiere a la misma modalidad. Además, las características, estructuras o características particulares pueden combinarse de cualquier manera adecuada en una o más modalidades. También se entiende que la mención positiva de un elemento en una modalidad, sirve como base para excluir el elemento en una modalidad particular.

5 Como se usa en la presente descripción, el término “complejo de TCR” se refiere a un complejo formado por la asociación de CD3 con un TCR. Por ejemplo, un complejo de TCR puede estar compuesto por una cadena de CD3 γ , una cadena de CD3 δ , dos cadenas de CD3 ϵ , un homodímero de cadenas de CD3 ζ , una cadena de TCR α , y una cadena de TCR β . En algunas modalidades, un complejo de TCR puede estar compuesto por una cadena de CD3 γ ,
10 una cadena de CD3 δ , dos cadenas de CD3 ϵ , un homodímero de cadenas de CD3 ζ , una cadena de TCR γ , y una cadena de TCR δ .

Un “componente de un complejo de TCR”, como se usa en la presente descripción, se refiere a una cadena de TCR (es decir, TCR α , TCR β , TCR γ o TCR δ), una cadena de CD3 (es decir, CD3 γ , CD3 δ , CD3 ϵ o CD3 ζ), o un complejo formado por dos o más cadenas de TCR o
15 cadenas de CD3 (por ejemplo, un complejo de TCR α y TCR β , un complejo de TCR γ y TCR δ , un complejo de CD3 ϵ y CD3 δ , un complejo de CD3 γ y CD3 ϵ , o un complejo de sub-TCR de TCR α , TCR β , CD3 γ , CD3 δ y dos cadenas de CD3 ϵ).

Un “polipéptido de accionamiento”, “dominio de accionamiento” o “accionador”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un polipéptido que, asocia, integra o forma
20 complejos, ya sea directa o indirectamente, con un complejo de receptor inmunitario multimérico para promover la señalización y no contiene en sí mismo propiedades de unión directa al antígeno. En ciertas modalidades, el dominio accionador es parte de una proteína o complejo proteico que señala cuando se une a una molécula diana. El dominio accionador puede contribuir directamente a una respuesta celular cuando contiene dominios o motivos de
25 señalización, tales como un motivo de activación basado en tirosina de inmunorreceptor (ITAM, por sus siglas en inglés). En otras modalidades, un dominio accionador promoverá

indirectamente una respuesta celular al asociarse con una o más de otras proteínas que señalizan directamente y, por lo tanto, promueven una respuesta celular. Los dominios accionadores ilustrativos incluyen, p. ej., un polipéptido CD3, polipéptido FcεR1γ, polipéptido Igα/CD79a, polipéptido Igβ/CD79b, polipéptido DAP10, o polipéptido DAP12, o cualquier
5 combinación de estos.

Un “dominio de multimerización”, o “polipéptido de dominio de multimerización” como se usa en la presente descripción, se refiere a un polipéptido que preferentemente interactúa o se asocia con otro polipéptido diferente directamente o a través de una molécula de formación de puentes, p. ej., un dimerizador químicamente inducible, en donde la interacción de diferentes
10 dominios de multimerización contribuye sustancialmente a o promueve eficientemente la multimerización (es decir, la formación de un dímero, trímero, o complejo multipartito, que puede ser un homodímero, heterodímero, homotrímero, heterotrímero, homomultímero, heteromultímero). Un dominio de multimerización puede derivarse de una fuente natural, sintética, semisintética o recombinante.

Los ejemplos ilustrativos de dominios de multimerización adecuados para su uso en modalidades particulares contempladas en la presente descripción incluyen un polipéptido de proteína de unión a FK506 (FKBP) o variantes de estos, un polipéptido de unión a FKBP-
rapamicina (FRB) o variantes de este, un polipéptido de calcineurina o variantes de este, un polipéptido de ciclofilina o variantes de este, un polipéptido de dihidrofolato reductasa (DHFR)
20 bacteriana o variantes de este, un polipéptido tipo PYR1 1 (PYL1) o variantes de este, un polipéptido insensible al ácido abscísico 1 (ABI1) o variantes de este, un polipéptido GIB1 o variantes de este, o un polipéptido GAI o variantes de este.

Como se usa en la presente descripción, el término “polipéptido de unión a FKBP-
rapamicina” se refiere a un polipéptido FRB. En modalidades particulares, el polipéptido FRB es
25 un polipéptido de unión a FKBP12-rapamicina. Los polipéptidos FRB adecuados para su uso en modalidades particulares contempladas en la presente descripción generalmente contienen al

menos de aproximadamente 85 a aproximadamente 100 residuos de aminoácidos. En ciertas modalidades, el polipéptido FRB comprende una secuencia de 93 aminoácidos Ile-2021 hasta Lys-2113 y una mutación de T2098L (T82L es una posición equivalente en el polipéptido FRB de 93 aminoácidos), con referencia al núm. de acceso de GenBank L34075.1. Los términos

5 “estrella FRB”, FRBestrella” o “FRB*” como se usan en la presente descripción se refieren a tales mutantes de FRB T2098L (T82L). Un polipéptido FRB contemplado en la presente descripción se une a un polipéptido FKBP a través de un factor de formación de puentes, formando de esta manera un complejo ternario.

Como se usa en la presente descripción, el término “proteína de unión a FK506” se
10 refiere a un polipéptido FKBP. En modalidades particulares, el polipéptido FKBP es un polipéptido FKBP12 o un polipéptido FKBP12 que comprende una mutación F36V. En ciertas modalidades, un dominio de FKBP también puede denominarse “dominio de unión a rapamicina”. La información relativa a las secuencias de nucleótidos, clonación y otros aspectos de diversas especies de FKBP se conoce en la técnica (ver, por ejemplo, Staendert *et al.*,
15 *Nature* 346:671, 1990 (FKBP12 humana); Kay, *Biochem. J.* 314:361, 1996). Un polipéptido FKBP contemplado en la presente descripción se une a un polipéptido FRB a través de un factor de formación de puentes, formando de esta manera un complejo ternario.

Un “factor de formación de puentes” se refiere a una molécula que se asocia con y que se dispone entre dos o más dominios de multimerización. En modalidades particulares, los
20 dominios de multimerización contribuyen sustancialmente o promueven eficientemente la formación de un complejo polipeptídico solo en presencia de un factor de formación de puentes. En modalidades particulares, los dominios de multimerización no contribuyen o no promueven eficientemente la formación de un complejo polipeptídico en ausencia de un factor de formación de puentes. Los ejemplos ilustrativos de factores de formación de puentes adecuados para su
25 uso en modalidades particulares contempladas en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a AP21967, rapamicina (sirolimus) o un rapálogo de la misma, coumermicina o un

derivado de la misma, giberelina o un derivado de la misma, ácido abscísico (ABA) o un derivado del mismo, metotrexato o un derivado del mismo, ciclosporina A o un derivado de la misma, FKCsA o un derivado del mismo, ligando sintético de trimetoprima (Tmp) para FKBP (SLF) o un derivado del mismo, o cualquier combinación de estos.

5 Los análogos de rapamicina (rapálogos) incluyen, pero no se limitan a, los descritos en la patente de Estados Unidos núm. 6,649,595, cuyas estructuras de rapálogo se incorporan en la presente descripción como referencia en su totalidad. En ciertas modalidades, un factor de formación de puentes es un rapálogo con efecto inmunosupresor sustancialmente reducido en comparación con la rapamicina. En una modalidad preferida, el rapálogo es AP21967 (también
10 conocido como C-16-(S)-7-metilindolrapamicina, $IC_{50} = 10$ nM, un análogo de rapamicina no inmunosupresor modificado químicamente). Otros rapálogos ilustrativos adecuados para su uso en modalidades particulares contempladas en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, AP1903, AP20187, everolimus, novolimus, pimecrolimus, ridaforolimus, sirolimus, tacrolimus, temsirolimus, umirolimus, zotarolimus, y BPC015.

15 Un “efecto inmunosupresor sustancialmente reducido” se refiere a al menos menos de 0.1 a 0.005 veces el efecto inmunosupresor observado o esperado para la misma dosis medida clínicamente o en un sustituto adecuado *in vitro* (por ejemplo, inhibición de la proliferación de células T) o *in vivo* de la actividad inmunosupresora humana.

 Un “dominio transmembrana” o “dominio TM” es un dominio que ancla un polipéptido a
20 la membrana plasmática de una célula. El dominio TM puede derivarse de una fuente natural, sintética, semisintética o recombinante.

 Como se usa en la presente descripción, el término “dominio extracelular” se refiere a un dominio o porción de un polipéptido que está situado o presente fuera de una célula. El dominio extracelular de un componente de direccionamiento, como se describe en la presente
25 descripción, comprende al menos un dominio de direccionamiento, que redirige la activación de un complejo de receptor inmunitario, p. ej., un TCR, a uno o más antígenos diana

seleccionados, p. ej., en una célula diana, tal como una célula cancerosa, cuando el componente de direccionamiento se asocia con el componente de señalización, p. ej., por un factor de formación de puentes que conecta los dominios de multimerización del componente de direccionamiento y el componente de señalización, o mediante la asociación de dominios de multimerización del componente de direccionamiento y el componente de señalización sin la necesidad de un factor de formación de puentes.

El término "función efectora" o "función celular efectora" se refiere a una función especializada de una célula efectora inmunitaria. La función efectora incluye, pero no se limita a, activación, producción de citocinas, proliferación y actividad citotóxica, incluida la liberación de factores citotóxicos, u otras respuestas celulares provocadas con unión del antígeno al receptor expresado en la célula efectora inmunitaria. Un "dominio de señalización intracelular" o "endodominio" se refiere a la porción de una proteína que transduce la señal de función efectora y que ordena a la célula a realizar una función especializada. Aunque usualmente puede emplearse todo el dominio de señalización intracelular, en muchos casos no es necesario usar todo el dominio. En la medida en que se usa una porción truncada de un dominio de señalización intracelular, tal porción truncada puede usarse en lugar de todo el dominio siempre que transduzca una señal de función efectora. El término dominio de señalización intracelular pretende incluir cualquier porción truncada de un dominio de señalización intracelular necesario o suficiente para transducir una señal de función efectora.

Se sabe que las señales generadas a través del TCR solo son insuficientes para la activación completa de la célula T y que también se requiere una señal secundaria o coestimuladora. Por lo tanto, puede decirse que la activación de células T está mediada por dos clases distintas de dominios de señalización intracelular: dominios de señalización primaria que inician la activación primaria dependiente del antígeno a través del TCR (por ejemplo, un complejo de TCR/CD3) y dominios de señalización coestimuladora que actúan de una manera independiente del antígeno para proporcionar una señal secundaria o coestimuladora.

Como se usa en la presente, el término "dominio de señalización coestimulador" o "dominio coestimulador" se refiere a un dominio de señalización intracelular de una molécula coestimuladora. Las moléculas coestimuladoras son moléculas de superficie celular que no son receptores de antígeno ni receptores de Fc que proporcionan una segunda señal requerida para una activación y función eficientes de los linfocitos T tras la unión al antígeno. Los ejemplos ilustrativos de tales moléculas coestimuladoras a partir de las cuales pueden aislarse dominios coestimuladores incluyen, pero no se limitan a: Receptor de tipo toll 1 (TLR1), TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, miembro 11 de la familia del dominio de reclutamiento de caspasa (CARD11), CD2, CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CD54 (ICAM), CD83, CD94, CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD278 (ICOS), proteína de activación de DNAX 10 (DAP10), FYN, miembro 1 de la familia del enlazador para la activación de células T (LAT), proteína leucocítica que contiene dominio SH2 de 76 kD (SLP76), LCK, adaptador transmembrana 1 asociado al receptor de células T (TRAT1), TNFR2, miembro 14 de la superfamilia de receptores de TNF (TNFRS14; HVEM), miembro 18 de la superfamilia de receptores de TNF (TNFRS18; GITR), miembro 25 de la superfamilia de receptores de TNF (TNFRS25; DR3), y cadena zeta de proteína cinasa 70 asociada a receptores de células T (ZAP70).

Un "dominio bisagra", se refiere a un polipéptido que desempeña un papel en el posicionamiento espacial de un dominio lejos de la superficie de la célula efectora para permitir un contacto célula/célula, unión al antígeno y activación adecuados. En modalidades particulares, los polipéptidos pueden comprender uno o más dominios bisagra entre el dominio extracelular y el dominio transmembrana (TM), entre el dominio de multimerización y el dominio transmembrana, o entre el dominio de multimerización y el dominio accionador. El dominio bisagra puede derivarse de una fuente natural, sintética, semisintética o recombinante. El dominio bisagra puede incluir la secuencia de aminoácidos de una región bisagra de inmunoglobulina de origen natural o una región bisagra de inmunoglobulina alterada.

Un “enlazador” o “polipéptido enlazador” se refiere a una pluralidad de residuos de aminoácidos entre los diversos dominios polipeptídicos añadidos para la separación y conformación apropiadas de la molécula. En modalidades particulares, el enlazador es una secuencia de enlace de región variable. Una "secuencia de enlace de región variable", es una secuencia de aminoácidos que conecta los dominios V_H y V_L y proporciona una función de separador compatible con la interacción de los dos subdominios de unión de manera que el polipéptido resultante retiene una afinidad de unión específica a la misma molécula diana que un anticuerpo que comprende las mismas regiones variables de cadena ligera y pesada. En modalidades particulares, un enlazador separa uno o más dominios variables de cadena pesada o ligera, dominios bisagra, dominios de multimerización, dominios transmembrana, dominios coestimuladores, y/o dominios de señalización primaria.

Los ejemplos ilustrados de enlazadores adecuados para su uso en modalidades particulares contempladas en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, las siguientes secuencias de aminoácidos: GGG; DGGGS (SEQ ID NO: 16); TGEKP (SEQ ID NO: 17) (ver, p. ej., Liu *et al.*, PNAS 5525-5530 (1997)); GGRR (SEQ ID NO: 18) (Pomerantz *et al.* 1995, supra); (GGGGS)_n en donde n = 1, 2, 3, 4 o 5 (SEQ ID NOs: 11-15) (Kim *et al.*, PNAS 93, 1156-1160 (1996.); EGKSSGSGSESKVD (SEQ ID NO: 19) (Chaudhary *et al.*, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:1066-1070); KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO: 20) (Bird *et al.*, 1988, Science 242:423-426), GGRRGGGS (SEQ ID NO: 21); LRQRDGERP (SEQ ID NO: 22); LRQKDGGGSERP (SEQ ID NO: 23); LRQKD(GGGGS)₂ ERP (SEQ ID NO: 24). Alternativamente, los enlazadores flexibles pueden diseñarse de manera racional usando un programa informático capaz de modelar tanto sitios de unión al ADN y los péptidos en sí (Desjarlais & Berg, PNAS 90:2256-2260 (1993), PNAS 91:11099-11103 (1994) o mediante métodos de visualización de fagos. En una modalidad, el enlazador comprende la siguiente secuencia de aminoácidos: GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 25) (Cooper *et al.*, Blood, 101(4): 1637-1644 (2003)).

Un "dominio separador", se refiere a un polipéptido que separa dos dominios. En una modalidad, un dominio separador mueve un dominio de direccionamiento lejos de la superficie de la célula efectora para permitir un contacto célula/célula, unión al antígeno y activación adecuados (Patel *et al.*, *Gene Therapy*, 1999; 6: 412-419). En modalidades particulares, un

5 dominio separador separa uno o más dominios variables de cadena pesada o ligera, dominios de multimerización, dominios transmembrana, dominios coestimuladores, y/o dominios de señalización primaria. El dominio espaciador puede derivarse de una fuente natural, sintética, semisintética o recombinante. En ciertas modalidades, un dominio espaciador es una porción de una inmunoglobulina, que incluye, pero no se limita a, una o más regiones constantes de la

10 cadena pesada, *por* ejemplo, CH2 y CH3. El dominio espaciador puede incluir la secuencia de aminoácidos de una región bisagra de inmunoglobulina de origen natural o una región bisagra de inmunoglobulina alterada.

Un "antígeno (Ag)" se refiere a un compuesto, composición o sustancia que puede estimular la producción de anticuerpos o una respuesta de células T en un animal, que incluye

15 composiciones (tales como una que incluye una proteína específica del cáncer) que se inyectan o absorben en un animal. Los antígenos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, lípidos, carbohidratos, polisacáridos, glicoproteínas, péptidos, o ácidos nucleicos. Un antígeno reacciona con los productos de inmunidad humoral o celular específica, incluidos los inducidos por antígenos heterólogos, tales como los antígenos descritos.

20 Un "antígeno diana" o "antígeno diana de interés" se refiere a una molécula expresada en la superficie celular de una célula diana a la cual un dominio de unión o direccionamiento contemplado en la presente descripción está diseñado a unirse. En modalidades particulares, el antígeno diana es un epítipo de un polipéptido expresado en la superficie de una célula cancerosa.

25 Como se usa en la presente descripción, el término "dominio de direccionamiento" se refiere a un dominio, p. ej., un dominio de un componente de direccionamiento, que proporciona

al polipéptido la capacidad de unirse específicamente a un antígeno diana de interés. El dominio de direccionamiento puede derivarse de una fuente natural, sintética, semisintética, o recombinante. Un dominio de direccionamiento puede, p. ej., comprender un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno de este o, p. ej., un ectodominio.

5 Los términos "afinidad de unión específica" o "se une específicamente" o "unido específicamente" o unión específica" o "se dirige específicamente" como se usa en la presente descripción, describen la unión de un dominio de direccionamiento a un antígeno diana con mayor afinidad de unión que la unión de fondo. Un dominio de direccionamiento "se une específicamente" a un antígeno diana, si se une o se asocia con el antígeno con una afinidad o

10 K_a (es decir, una constante de asociación de equilibrio de una interacción de unión particular con unidades de $1/M$), por ejemplo, mayor que o igual a aproximadamente $10^5 M^{-1}$. En ciertas modalidades, un dominio de direccionamiento (o una proteína de fusión de este) se une a una diana con una K_a mayor o igual a aproximadamente $10^6 M^{-1}$, $10^7 M^{-1}$, $10^8 M^{-1}$, $10^9 M^{-1}$, $10^{10} M^{-1}$, $10^{11} M^{-1}$, $10^{12} M^{-1}$, o $10^{13} M^{-1}$. Los dominios de direccionamiento de "alta afinidad" (o proteínas

15 de fusión monocatenarias de estos) se refieren a aquellos dominios de direccionamiento con una K_a de al menos $10^7 M^{-1}$, al menos $10^8 M^{-1}$, al menos $10^9 M^{-1}$, al menos $10^{10} M^{-1}$, al menos $10^{11} M^{-1}$, al menos $10^{12} M^{-1}$, al menos $10^{13} M^{-1}$, o mayor.

 Los términos "se une selectivamente" o "unido selectivamente" o "unirse selectivamente" o "se dirige selectivamente" describen la unión preferencial de una molécula a una molécula

20 diana (unión en la diana) en presencia de una pluralidad de moléculas fuera de la diana.

 Un "anticuerpo" se refiere a un agente de unión que es un polipéptido que comprende al menos una región variable de inmunoglobulina de cadena ligera o cadena pesada que reconoce y se une específicamente a un epítipo de un antígeno, tal como un lípido, carbohidrato, polisacárido, glicoproteína, péptido, o ácido nucleico que contiene un determinante antigénico,

25 tal como los reconocidos por una célula inmunitaria.

Un "epítipo" o "determinante antigénico" se refiere a la región de un antígeno a la que se une un agente de unión.

Los anticuerpos incluyen fragmentos de unión al antígeno de estos, tales como Ig de camello, Ig de llama, Ig de alpaca, NAR de Ig, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un dímero Fab biespecífico (Fab₂), un trímero Fab trispecífico (Fab₃), un Fv, una proteína Fv monocatenaria ("scFv"), un bis-scFv, (scFv)₂, un minicuerpo, un diacuerpo, un triacuerpo, un tetracuerpo, una proteína Fv estabilizada con disulfuro ("dsFv"), y un anticuerpo de dominio único (sdAb, un VHH de camélido, Nanocuerpo) y porciones de anticuerpos de longitud completa responsables de la unión al antígeno. El término también incluye formas modificadas genéticamente tales como anticuerpos quiméricos (por ejemplo, anticuerpos murinos humanizados), anticuerpos heteroconjugados (tales como anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Ver también, Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL); Kuby, J., Immunology, 3a Ed., W. H. Freeman & Co., Nueva York, 1997.

Como se usa en la presente, el término "cáncer" se refiere generalmente a una clase de enfermedades o afecciones en las que las células anormales se dividen sin control y pueden invadir tejidos cercanos.

Como se usa en la presente, el término "maligno" se refiere a un cáncer en el que un grupo de células tumorales muestra uno o más de crecimiento no controlado (es decir, división más allá de los límites normales), invasión (es decir, intrusión y destrucción de tejidos adyacentes), y metástasis (es decir, propagación a otras ubicaciones del cuerpo a través de la linfa o la sangre). Como se usa en la presente, el término "metástasis" se refiere a la propagación del cáncer de una parte del cuerpo a otra. Un tumor formado por células que se han extendido se denomina "tumor metastásico" o "metástasis". El tumor metastásico contiene células que son similares a las del tumor original (primario).

Como se usa en la presente, el término "benigno" o "no maligno" se refiere a tumores que pueden crecer pero no se extienden a otras partes del cuerpo. Los tumores beneficiosos son autolimitados y típicamente no invaden ni hacen metástasis.

Una "célula cancerosa" se refiere a una célula individual de un crecimiento o tejido canceroso. Las células cancerosas incluyen cánceres sólidos y cánceres líquidos. Un "tumor" o "célula tumoral" se refiere generalmente a una inflamación o lesión formada por un crecimiento anormal de células, que puede ser benigno, premaligno o maligno. La mayoría de los cánceres forman tumores, pero los cánceres líquidos, *por ejemplo*, leucemia, no necesariamente forman tumores. Para aquellos cánceres que forman tumores, los términos cáncer (célula) y tumor (célula) se usan indistintamente. La cantidad de un tumor en un individuo es la "carga tumoral", que puede medirse como la cantidad, volumen o peso del tumor.

El término "recidiva" se refiere al diagnóstico de retorno, o signos y síntomas de retorno, de un cáncer después de un periodo de mejora o remisión.

"Remisión", también se denomina "remisión clínica", e incluye remisión parcial y completa. En remisión parcial, algunos, pero no todos, los signos y síntomas del cáncer han desaparecido. En remisión completa, todos los signos y síntomas del cáncer han desaparecido, aunque el cáncer aún puede estar en el cuerpo.

"Refractario" se refiere a un cáncer que es resistente a, o no responde a, la terapia con un agente terapéutico particular. Un cáncer puede ser refractario desde el inicio del tratamiento (*es decir*, no responde a la exposición inicial al agente terapéutico), o como resultado del desarrollo de resistencia al agente terapéutico, ya sea durante el transcurso de un primer periodo de tratamiento o durante un periodo de tratamiento posterior.

"Negativa al antígeno" se refiere a una célula que no expresa antígeno o expresa una cantidad insignificante de antígeno que es indetectable. En una modalidad, las células negativas al antígeno no se unen a los receptores dirigidos al antígeno. En una modalidad, las células negativas al antígeno no se unen sustancialmente a los receptores dirigidos al antígeno.

Como se usa en la presente, los términos "individuo" y "sujeto" frecuentemente se usan indistintamente y se refieren a cualquier animal que exhiba un síntoma de cáncer u otro trastorno inmunitario que pueda tratarse con las composiciones y métodos contemplados en otra parte de la presente descripción. Los sujetos adecuados (*por ejemplo*, pacientes) incluyen animales de laboratorio (tales como ratón, rata, conejo o cobaya), animales de granja, y animales domésticos o mascotas (tales como un gato o perro). Se incluyen primates no humanos y, preferentemente, pacientes humanos. Los sujetos típicos incluyen pacientes humanos que tienen, han sido diagnosticados con, o están en riesgo de tener cáncer u otro trastorno inmunitario.

Como se usa en la presente, el término "paciente" se refiere a un sujeto que ha sido diagnosticado con cáncer u otro trastorno inmunitario que puede tratarse con las composiciones y métodos descritos en otra parte de la presente descripción.

Como se usa en la presente "tratamiento" o "que trata", incluye cualquier efecto beneficioso o conveniente sobre los síntomas o patología de una enfermedad o afección patológica, y puede incluir incluso reducciones mínimas en uno o más marcadores medibles de la enfermedad o afección que se trata. El tratamiento puede implicar opcionalmente ya sea la reducción de la enfermedad o afección, o el retraso de la progresión de la enfermedad o afección, *por ejemplo*, el retraso del crecimiento tumoral. El "tratamiento" no indica necesariamente la erradicación completa o la cura de la enfermedad o afección, o los síntomas asociados de esta.

Como se usa en la presente, "prevenir", y palabras similares tales como "prevenido", "prevención", etc., indican un enfoque para prevenir, inhibir o reducir la posibilidad de la ocurrencia o recurrencia de una enfermedad o afección. También se refiere a retrasar la aparición o recurrencia de una enfermedad o afección o retrasar la aparición o recurrencia de los síntomas de una enfermedad o afección. Como se usa en la presente, "prevención" y

palabras similares también incluyen reducir la intensidad, efecto, síntomas y/o carga de una enfermedad o afección antes del inicio o recurrencia de la enfermedad o afección.

Como se usa en la presente, la frase "mejorar al menos un síntoma de" se refiere a disminuir uno o más síntomas de la enfermedad o afección por la cual se trata al sujeto. En
5 modalidades particulares, la enfermedad o afección que se trata es un cáncer, en donde el uno o más síntomas mejorados incluyen, pero sin limitarse a, debilidad, fatiga, disnea, hematomas y hemorragias fáciles, infecciones frecuentes, agrandamiento de los nodos linfáticos, abdomen distendido o doloroso (debido a órganos abdominales dilatados), dolor óseo o articular, fracturas, pérdida de peso no planificada, poco apetito, sudoraciones nocturnas, fiebre leve
10 persistente y disminución de la micción (debido a una función renal deficiente).

Por "potenciar" o "promover", o "aumentar" o "ampliar" se hace referencia generalmente a la capacidad de una composición contemplada en la presente descripción para producir, provocar o causar una mayor respuesta fisiológica (es decir, efectos corriente abajo) en comparación con la respuesta causada por cualquier vehículo o una molécula/composición de
15 control. Una respuesta fisiológica medible puede incluir un aumento en la expansión de células T, activación, persistencia, secreción de citocinas y/o un aumento en la capacidad de destrucción de células cancerosas, entre otras evidentes a partir de la comprensión en la técnica y la descripción en la presente descripción. Una cantidad "aumentada" o "potenciada" es típicamente una cantidad "estadísticamente significativa", y puede incluir un aumento que es
20 1.1, 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30 o más veces (por ejemplo, 500, 1000 veces) (incluidos todos los números enteros y puntos decimales entre y por encima de 1, por ejemplo, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, etc.) la respuesta producida por el vehículo o una composición de control.

Por "disminución" o "inferior", o "menos", o "reducir", o "anular" se refiere generalmente a la capacidad de la composición contemplada en la presente descripción para producir,
25 provocar o causar una respuesta fisiológica menor (es decir, efectos aguas abajo) en comparación con la respuesta causada por el vehículo o una molécula/composición de control.

Una "disminución" o cantidad "reducida" es típicamente una cantidad "estadísticamente significativa", y puede incluir una disminución que es 1.1, 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30 o más veces (por ejemplo, 500, 1000 veces) (incluidos todos los números enteros y puntos decimales entre y por encima de 1, por ejemplo, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, etc.) la respuesta (respuesta de referencia) producida por el vehículo, una composición de control o la respuesta en una línea celular particular.

Por "mantenimiento", o "preservación", o "mantenimiento", o "sin cambio", o "sin cambio sustancial", o "sin disminución sustancial" se hace referencia generalmente a la capacidad de una composición contemplada en la presente descripción para producir, provocar o causar una respuesta fisiológica sustancialmente similar o comparable (es decir, efectos corriente abajo) en una célula, en comparación con la respuesta causada por cualquiera de los vehículos, una molécula/composición de control, o la respuesta en una línea celular particular. Una respuesta comparable es una que no es significativamente diferente o medible diferente de la respuesta de referencia.

Las definiciones adicionales se exponen a lo largo de esta descripción.

C. ARQUITECTURAS DE RECEPTORES INMUNITARIOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE

En modalidades particulares, se contemplan uno o más receptores inmunitarios modificados genéticamente que redirigen la citotoxicidad de las células efectoras inmunitarias hacia las células que expresan un antígeno diana y que reclutan y un complejo de receptor inmunitario. Como se usa en la presente descripción, los términos "receptor inmunitario modificado genéticamente", "complejo de receptor inmunitario modificado genéticamente" o "sistema de receptor inmunitario modificado genéticamente" se refieren a uno o más polipéptidos de origen no natural que facilitan la transducción de una señal inmunoestimuladora en una célula efectora inmunitaria tras la exposición a un antígeno diana predefinido o seleccionado y la asociación/multimerización con un complejo de receptor inmunitario. En algunas modalidades, se requiere un agente multimerizante o factor de formación de puentes

para promover la multimerización de los polipéptidos de origen no natural y, de esta manera, estimular la actividad y función de las células efectoras inmunitarias mediante la activación de un complejo de receptor inmunitario. En modalidades preferidas, un receptor inmunitario modificado genéticamente o sistema es un receptor quimérico multicatenario que comprende un componente de señalización que se asocia con un miembro de un complejo de receptor inmunitario, y un componente de direccionamiento que redirige o complementa la especificidad de antígeno del receptor/complejo.

En una modalidad, un componente de señalización y un componente de direccionamiento se expresan desde la misma célula. En otra modalidad, un componente de señalización y un componente de direccionamiento se expresan desde diferentes células. En otra modalidad, un componente de señalización se expresa desde una célula y un componente de direccionamiento se suministra exógenamente, como un polipéptido. En una modalidad particular, un componente de direccionamiento precargado con un factor de formación de puentes se suministra exógenamente a una célula que expresa un componente de señalización.

1. COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN

Un “componente de señalización” se refiere a un polipéptido que comprende uno o más dominios de multimerización (p. ej., polipéptidos FRB o FKBP) o variantes de estos, y un dominio/polipéptido CD3 ϵ , o fragmento funcional o variante de este, que es capaz de reclutar un complejo de receptor inmunitario (p. ej., un complejo de TCR).

En varias modalidades, el péptido CD3 ϵ o un fragmento funcional o variante de este que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 32. En algunas modalidades, el péptido CD3 ϵ o un fragmento funcional o variante de este que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 32. En algunas modalidades, el péptido CD3 ϵ o un fragmento funcional o variante de este que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 32. En algunas modalidades, el péptido CD3 ϵ o un fragmento funcional o

variante de este que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 32. En algunas modalidades, el péptido CD3ε o un fragmento funcional o variante de este que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 32. En algunas modalidades, el péptido CD3ε o un fragmento funcional o variante de este que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 32. En modalidades particulares, el péptido CD3ε comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 32.

En varias modalidades, el polipéptido CD3ε es un polipéptido CD3ε humano.

En modalidades particulares, un componente de señalización comprende un dominio/polipéptido de multimerización FRB o FRB T2098L, un polipéptido enlazador, y un polipéptido CD3ε.

En diversas modalidades, un componente de señalización comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En diversas modalidades, un componente de señalización comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En diversas modalidades, un componente de señalización comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En diversas modalidades, un componente de señalización comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En diversas modalidades, un componente de señalización comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En diversas modalidades, un componente de señalización comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 111. En modalidades particulares, un componente de señalización comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 111.

En diversas modalidades, el dominio de multimerización (p. ej., FRB o FKBP) se localiza extracelularmente cuando se expresa el componente de señalización.

En modalidades particulares, un componente de señalización comprende un polipéptido FRB o una variante de este. En diversas modalidades, un componente de señalización comprende un polipéptido FRB que comprende una mutación T2098L (T82L), o variante de este. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 1. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 1. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 1. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 1. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 1. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 1. En modalidades particulares, el polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 1. En modalidades particulares, el polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 2. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 2. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 2. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 2. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 2. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 2. En modalidades particulares, un polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 2. En

modalidades particulares, el polipéptido FRB comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 2.

En modalidades particulares, el componente de señalización comprende un polipéptido FKBP12 o una variante de este. En diversas modalidades, un componente de señalización

5 comprende un polipéptido FKBP12 que comprende una mutación F36V. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 3. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 3. En una

10 modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 3. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 3. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 3. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con

15 la SEQ ID NO: 3. En modalidades particulares, el polipéptido FKBP12 comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 3. En modalidades particulares, el polipéptido FKBP12 comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 4. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 4. En una modalidad, el polipéptido

20 FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 4. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 4. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 4. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una

25 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 4. En una modalidad, el polipéptido FKBP12 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al

menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 4. En modalidades particulares, el polipéptido FKBP12 comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 4.

En diversas modalidades, el primer dominio de multimerización (p. ej., FRB o FKBP) y el dominio/polipéptido CD3ε se separan por un primer enlazador polipeptídico de 2 a 40

- 5 aminoácidos de longitud. En diversas modalidades, un enlazador oligopeptídico o polipeptídico corto, preferentemente entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 aminoácidos de longitud enlaza uno o más dominios en el componente de señalización. Un enlazador basado en glicina-serina proporciona un enlazador particularmente adecuado. En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste
- 10 en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2xG4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador G4S (GGGGS; SEQ ID NO: 11). En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador 2xG4S (GGGSGGGGS; SEQ ID NO: 12). En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador 3xG4S
- 15 (GGGSGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 13). En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador 4xG4S (GGGSGGGSGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 14). En algunas modalidades, el primer enlazador polipeptídico es un enlazador 5xG4S (GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 15). En una modalidad, el enlazador tiene una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 16. En una modalidad, el enlazador tiene
- 20 una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 17. En una modalidad, el enlazador tiene una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 18. En una modalidad, el enlazador tiene una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 19. En una modalidad, el enlazador tiene una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 20. En una modalidad, el enlazador tiene una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 21. En una modalidad, el enlazador tiene una
- 25 secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 22. En una modalidad, el enlazador tiene una secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 23. En una modalidad, el enlazador tiene una

secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 24. En una modalidad, el enlazador tiene una
secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 25. En una modalidad, el enlazador tiene una
secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 26. En una modalidad, el enlazador tiene una
secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 27. En una modalidad, el enlazador tiene una
5 secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 28. En una modalidad, el enlazador tiene una
secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 29. En una modalidad, el enlazador tiene una
secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 30. En una modalidad, el enlazador tiene una
secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 31.

En varias modalidades, un componente de señalización contemplado en la presente
10 descripción comprende un péptido señal, por ejemplo, un polipéptido señal de secreción o una
secuencia señal. Los ejemplos ilustrativos de péptidos/secuencias señal adecuados para su uso
en componentes de señalización particulares incluyen, pero no se limitan a, un polipéptido señal
de cadena pesada de IgG1, un polipéptido señal de cadena ligera de Igk, un polipéptido señal
de CD8 α , o un polipéptido señal alfa del receptor GM-CSF humano. En varias modalidades, un
15 componente de señalización comprende un polipéptido señal de cadena ligera Igk. En algunas
modalidades, el polipéptido señal de cadena ligera de Igk comprende una secuencia de
aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 95. En varias modalidades, un componente de
señalización comprende un polipéptido señal de CD8 α . En algunas modalidades, el polipéptido
señal de cadena ligera de CD8 α comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en
20 la SEQ ID NO: 96. En varias modalidades, un componente de señalización comprende un
polipéptido señal de PD1. En una modalidad, un polipéptido señal de PD1 comprende una
secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 97.

En modalidades particulares, el componente de señalización comprende un polipéptido
FRB o variante de este, un enlazador 3xG4S, y un polipéptido de CD3 ϵ o variante de este. En
25 modalidades particulares, el componente de señalización comprende una secuencia de
señalización, un polipéptido FRB o variante de este, un enlazador 3xG4S, y un polipéptido de

CD3ε o variante de este. En modalidades particulares, el componente de señalización comprende una secuencia de señalización de CD8, un polipéptido FRB* o variante de este, un enlazador 3xG4S, y un polipéptido de CD3ε o variante de este. En modalidades particulares, el componente de señalización comprende una secuencia de señalización de CD8 (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 96, un polipéptido FRB* o variante de este (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 1, un enlazador 3xG4S (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 13), y un polipéptido de CD3ε (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 32).

2. COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO

Un “componente de direccionamiento” se refiere a un polipéptido que comprende un dominio extracelular, uno o más dominios de multimerización, y un dominio transmembrana, que junto con un componente de señalización redirige la activación de un complejo de receptor inmunitario a uno o más antígenos diana seleccionados. En algunas modalidades, el dominio extracelular comprende uno o más dominios de direccionamiento que se asocian con y/o se unen a uno o más antígenos diana. En modalidades particulares, un componente de direccionamiento comprende un primer dominio de direccionamiento, un segundo dominio de multimerización, un dominio bisagra, y un dominio transmembrana.

En modalidades particulares, un componente de direccionamiento comprende un dominio extracelular que comprende al menos un dominio de direccionamiento, en donde el dominio de direccionamiento es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este dirigido contra uno o más antígenos diana. Los fragmentos de unión al antígeno dirigidos contra uno o más antígenos diana adecuados para su uso en modalidades particulares contempladas en la presente descripción incluyen los seleccionados del grupo que consiste en: una Ig de camello, una Ig de llama, una Ig de alpaca, NAR de Ig, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un dímero Fab biespecífico (Fab₂), un trímero Fab triespecífico (Fab₃), un Fv, una proteína Fv monocatenaria (“scFv”), un bis-scFv, (scFv)₂, un minicuerpo, un diacuerpo, un triacuerpo, un

tetracuerpo, una proteína Fv estabilizada con disulfuro ("dsFv"), y un anticuerpo de dominio único (p. ej., sdAb, un VHH de camélido, o nanocuerpo).

En diversas modalidades, el dominio de direccionamiento comprende un fragmento variable monocatenario (scFv) o un anticuerpo de dominio único (sdAb). En diversas

5 modalidades, el dominio de direccionamiento comprende un fragmento variable monocatenario (scFv). En algunas modalidades, el sdAb es un VHH, nanocuerpo, o anticuerpo solo de cadenas pesadas (HcAb) de camélido. En algunas modalidades, el sdAb es un VHH de camélido. En algunas modalidades, el scFv o el sdAb es humano o humanizado. En modalidades particulares, el VHH es humanizado.

10 La descripción proporciona una tecnología de plataforma que es aplicable a numerosas clases y fragmentos de dominios de direccionamiento y no debe limitarse, por ejemplo, a un dominio de direccionamiento particular, por ejemplo, anticuerpo, fragmento de unión al antígeno, ectodominio, etc., para dirigirse a un antígeno diana específico.

Por ejemplo, en algunas modalidades, el antígeno diana es un antígeno expresado en
15 una célula diana, incluso, por ejemplo, células cancerosas. En algunas modalidades, el dominio de direccionamiento se une a un antígeno diana CD33 y/o un antígeno diana de la molécula 1 similar a la lectina tipo C (CLL-1). En varias modalidades, el componente de direccionamiento comprende un dominio extracelular que comprende un segundo dominio de direccionamiento.

En diversas modalidades, el segundo dominio de direccionamiento comprende un
20 fragmento variable monocatenario (scFv) o un anticuerpo de dominio único (sdAb). En diversas modalidades, el segundo dominio de direccionamiento comprende un fragmento variable monocatenario (scFv). En algunas modalidades, el sdAb es un VHH, nanocuerpo, o anticuerpo solo de cadenas pesadas (HcAb) de camélido. En algunas modalidades, el sdAb es un VHH de camélido. En algunas modalidades, el scFv o el sdAb es humano o humanizado. En
25 modalidades particulares, el VHH es humanizado.

Los dominios extracelulares contemplados en modalidades particulares comprenden un segundo dominio de direccionamiento que se une a un antígeno diana CD33 y/o un antígeno diana de molécula 1 similar a la lectina tipo C (CLL-1). En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende un dominio de direccionamiento a CD33. En una modalidad, el dominio de direccionamiento a CD33 es un VHH. En una modalidad, el VHH de CD33 comprende una CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 90, y una CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 91. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 72. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 72.

En una modalidad, el dominio de direccionamiento es un dominio de direccionamiento a CLL1. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende un dominio de direccionamiento a CLL1. En una modalidad, el dominio de direccionamiento a CLL1 es un VHH. En una modalidad, el VHH de CD33 comprende una CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 92, una CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 93, y una CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 94. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que

tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 75. En una modalidad, el dominio de direccionamiento comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 75.

En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende un primer dominio de direccionamiento y un segundo dominio de direccionamiento. En una modalidad, el primer dominio de direccionamiento es un dominio de direccionamiento a CD33, y el segundo dominio de direccionamiento es un dominio de direccionamiento a CLL1. En otra modalidad, el primer dominio de direccionamiento es un dominio de direccionamiento a CLL1, y el segundo dominio de direccionamiento es un dominio de direccionamiento a CD33.

En una modalidad, el primer dominio de direccionamiento es un VHH de CD33, en donde, el VHH de CD33 comprende una CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 90, y una CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 91; y el segundo dominio de direccionamiento es un VHH de CLL1, en donde el VHH de CLL1 comprende una CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 92, una CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 93, y una CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 94.

En una modalidad, el segundo dominio de direccionamiento es un VHH de CD33, en donde, el VHH de CD33 comprende una CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 89, una CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 90, y una CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 91; y el primer dominio de direccionamiento es un VHH de CLL1, en donde el VHH de CLL1 comprende una CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 92, una CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 93, y una CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 94.

En diversas modalidades, el primer dominio de direccionamiento y el segundo dominio de direccionamiento se separan por un tercer enlazador polipeptídico de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el tercer enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2xG4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos.

En modalidades particulares, un componente de direccionamiento comprende uno o más dominios de multimerización.

Los ejemplos ilustrativos de dominios de multimerización adecuados para su uso en componentes de direccionamiento particulares contemplados en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, un polipéptido de proteína de unión a FK506 (FKBP) o variantes de estos, un polipéptido de unión a FKBP-rapamicina (FRB) o variantes de este, un polipéptido de calcineurina o variantes de este, un polipéptido de ciclofilina o variantes de este, un polipéptido de dihidrofolato reductasa (DHFR) bacteriana o variantes de este, un polipéptido tipo PYR1 1 (PYL1) o variantes de este y un polipéptido insensible al ácido abscísico 1 (ABI1) o variantes de este.

En varias modalidades, un componente de direccionamiento comprende un polipéptido FRB. En diversas modalidades, un componente de direccionamiento comprende un polipéptido FRB que comprende una mutación T2098L (T82L), o variante de este. En modalidades particulares, el polipéptido FRB comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 1. En modalidades particulares, el polipéptido FRB comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 2.

En varias modalidades, un componente de direccionamiento comprende un polipéptido FKBP12 o variante de este. En diversas modalidades, un componente de direccionamiento comprende un polipéptido FKBP12 que comprende una mutación F36V. En modalidades particulares, el polipéptido FKBP12 comprende la secuencia de aminoácidos como se expone

en la SEQ ID NO: 3. En modalidades particulares, el polipéptido FKBP12 comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 4.

Otros ejemplos ilustrativos de dominios de multimerización adecuados para su uso en componentes de direccionamiento particulares contemplados en la presente descripción

5 incluyen dominios de heterodimerización derivados de anticuerpos. Tales dominios de heterodimerización de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, llave cerradura, DEKK, SEEDbody, DuoBody, inmunoglobulina de dominio variable dual (DVD-Ig) y dominios de multimerización de inmunoglobulina de Fabs en tándem (FIT-Ig) (ver, por ejemplo, Ma *et al.*, *Front Immunol.* 5 de mayo de 2021;12:626616.)

10 En diversas modalidades, el dominio extracelular o el primer dominio de direccionamiento, y el segundo dominio de multimerización, se separan por un segundo enlazador polipeptídico de 2 a 40 aminoácidos de longitud. En diversas modalidades, un enlazador oligopeptídico o polipeptídico corto, preferentemente entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 aminoácidos de longitud enlaza uno o más dominios en

15 el componente de direccionamiento. Un enlazador basado en glicina-serina proporciona un enlazador particularmente adecuado. En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico se selecciona del grupo que consiste en: GG, GS, SG, SS, GSS, SSG, GSG, SGS, SGG, G4S, 2xG4S, 3xG4s, 4xG4S, y cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico es un enlazador G4S (GGGGS; SEQ ID NO: 11). En

20 algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico es un enlazador 2xG4S (GGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 12). En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico es un enlazador 3xG4S (GGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 13). En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico es un enlazador 4xG4S (GGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 14). En algunas modalidades, el segundo

25 enlazador polipeptídico es un enlazador 5xG4S (GGGGSGGGGS; SEQ ID NO: 15). En algunas modalidades, el segundo enlazador polipeptídico comprende una

secuencia de aminoácidos como se expone en una o más cualesquiera de las SEQ ID NO: 16-31.

En diversas modalidades, el segundo dominio de multimerización y el dominio transmembrana se separan por un dominio bisagra. En algunas modalidades, el dominio bisagra es una bisagra CD4. En algunas modalidades, la bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 41. En algunas modalidades, la bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 41. En algunas modalidades, la bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 41. En algunas modalidades, la bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 41. En algunas modalidades, la bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 41. En algunas modalidades, la bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 41. En algunas modalidades, la bisagra CD4 comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 41.

En algunas modalidades, el componente de direccionamiento comprende un enlazador que comprende una secuencia de aminoácidos GGR. En algunas modalidades, el componente de direccionamiento comprende un enlazador que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 13 o la SEQ ID NO: 14.

En modalidades particulares, un componente de direccionamiento comprende un dominio transmembrana.

Los ejemplos ilustrativos de dominios transmembrana adecuados para su uso en los componentes de direccionamiento particulares contemplados en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, la o las regiones transmembrana de la cadena alfa, beta, gamma, o delta de un receptor de células T, CD3ε, CD3ζ, CD4, CD5, CD8α, CD9, CD 16, CD22, CD27,

CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, sin amonios (AMN), y muerte celular programada 1 (PDCD1). En una modalidad diversa, un componente de direccionamiento comprende un dominio transmembrana de CD4, un dominio transmembrana de CD28, o un dominio transmembrana de CD8 α .

5 En una modalidad particular, un componente de direccionamiento comprende un dominio transmembrana de CD4. En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 45. En algunas
10 modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la
15 SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, el dominio transmembrana de CD4 comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 45.

 En modalidades particulares, un componente de direccionamiento comprende un
20 dominio intracelular de CD4 truncado (CD4ic). En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO:48. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 48. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 %
25 de identidad con la SEQ ID NO: 48. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID

NO: 48. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 48. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 48. En diversas modalidades, el dominio CD4ic truncado

5 comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 48. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 49. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 49. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia

10 de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 49. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 49. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 49. En una modalidad, el dominio de CD4ic truncado comprende una secuencia

15 de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 49. En diversas modalidades, el dominio CD4ic truncado comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 49.

En modalidades particulares, el componente de direccionamiento no comprende un dominio de señalización primario (por ejemplo, CD3z). En diversas modalidades, el componente

20 de direccionamiento no comprende un dominio de señalización intracelular o coestimulador.

En diversas modalidades, el componente de direccionamiento comprende además un polipéptido CD4 intracelular truncado. En algunas modalidades, el polipéptido CD4 intracelular truncado comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 48. En algunas modalidades, el polipéptido CD4 intracelular truncado comprende una secuencia de

25 aminoácidos como se expone en SEQ ID NO: 49.

En una modalidad preferida, un componente de direccionamiento comprende un dominio extracelular que comprende un primer dominio de direccionamiento que comprende un VHH o scFv que se une a CLL1, un polipéptido enlazador, un segundo dominio de direccionamiento que comprende un VHH o scFv que se une a CD33, un polipéptido enlazador, un dominio de multimerización FRB o FKBP12, una bisagra CD4, un dominio transmembrana de CD4, y un dominio CD4ic truncado. En una modalidad preferida, un componente de direccionamiento comprende un dominio extracelular que comprende un primer dominio de direccionamiento que comprende un VHH o scFv que se une a CD33, un polipéptido enlazador, un segundo dominio de direccionamiento que comprende un VHH o scFv que se une a CLL1, un polipéptido enlazador, un dominio de multimerización FRB o FKBP12, una bisagra CD4, un dominio transmembrana de CD4, y un dominio CD4ic truncado.

En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 122. En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 122. En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 122. En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 122. En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 122. En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 122. En una modalidad, el componente de direccionamiento comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 122.

En varias modalidades, un componente de direccionamiento contemplado en la presente descripción comprende un péptido señal, por ejemplo, un polipéptido o secuencia señal de secreción. Los ejemplos ilustrativos de polipéptidos/secuencias señal adecuados para su uso en componentes de direccionamiento particulares incluyen, pero no se limitan a, un polipéptido

señal de cadena pesada de IgG1, un polipéptido señal de cadena ligera de Igk, un polipéptido señal de CD8 α , o un polipéptido señal alfa del receptor GM-CSF humano.

En varias modalidades preferidas, un componente de direccionamiento comprende un polipéptido señal de cadena ligera Igk. En algunas modalidades, el polipéptido señal de cadena
5 larga de Igk comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En algunas modalidades, el polipéptido señal de cadena larga de Igk comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En algunas modalidades, el polipéptido señal de cadena larga de Igk comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En
10 algunas modalidades, el polipéptido señal de cadena larga de Igk comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En algunas modalidades, el polipéptido señal de cadena larga de Igk comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En algunas modalidades, el polipéptido señal de cadena larga de Igk comprende una secuencia de
15 aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 95. En algunas modalidades, el polipéptido señal de cadena ligera de Igk comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 95.

En modalidades particulares, el componente de direccionamiento comprende un dominio de direccionamiento a CLL1, un enlazador 3xG4S, un dominio de direccionamiento a
20 CD33, un enlazador 3xG4S, un polipéptido FKBP o variante de este, un dominio bisagra CD4, un dominio transmembrana CD4, y un polipéptido CD4 intracelular truncado. En modalidades particulares, el componente de direccionamiento comprende una secuencia de señalización, un dominio de direccionamiento a CLL1, un enlazador 3xG4S, un dominio de direccionamiento a
CD33, un enlazador 3xG4S, un polipéptido FKBP o variante de este, un dominio bisagra CD4,
25 un dominio transmembrana CD4, y un polipéptido CD4 intracelular truncado. En modalidades particulares, el componente de direccionamiento comprende una secuencia de señalización de

IgK, un dominio de direccionamiento a VHH de CLL1, un enlazador 3xG4S, un dominio de direccionamiento a VHH de CD33, un enlazador 3xG4S, un polipéptido FKBP o variante de este, un dominio bisagra CD4, un dominio transmembrana CD4, y un polipéptido CD4 intracelular truncado. En modalidades particulares, el componente de direccionamiento

5 comprende una secuencia de señalización de IgK (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 95), un dominio de direccionamiento a VHH de CLL1 (por ejemplo, que comprende una CDR1 como se expone en la SEQ ID NO: 92, una CDR2 como se expone en la SEQ ID NO: 93, y una SEQ ID NO: 94; y/o un VHH como se expone en la SEQ ID NO: 75), un enlazador 3xG4S (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 13), un dominio de direccionamiento a VHH de

10 CD33 (por ejemplo, que comprende una CDR1 expuesta como la SEQ ID NO: 89, una CDR2 expuesta como la SEQ ID NO: 90, una CDR3 expuesta como la SEQ ID NO: 91; y/o un VHH que comprende la SEQ ID NO: 72), un enlazador 3xG4S (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 13), un polipéptido FKBP o variante de este (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 3), un dominio bisagra CD4 (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 41),

15 un dominio transmembrana de CD4 (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 45), y un polipéptido CD4 intracelular truncado (por ejemplo, como se expone en la SEQ ID NO: 48 o la SEQ ID NO: 49).

3. FACTOR DE FORMACIÓN DE PUENTES

Los factores de formación de puentes contemplados en modalidades particulares en la

20 presente descripción median o promueven la asociación de uno o más componentes de señalización con uno o más componentes de direccionamiento a través de dominios de multimerización en los componentes respectivos. Un factor de formación de puentes se asocia con y se dispone entre los dominios de multimerización para promover la asociación de un componente de señalización y un componente de direccionamiento. En presencia de un factor

25 de formación de puentes, el componente de direccionamiento y el componente de señalización se asocian con un complejo de receptor inmunitario e inician la actividad de células efectoras

inmunitarias contra una célula diana cuando el componente de direccionamiento se une a un antígeno diana en la célula diana. En ausencia de un factor de formación de puentes, el componente de direccionamiento no se asocia con el componente de señalización, no recluta un complejo de receptor inmunitario y el receptor modificado genéticamente está inactivo contra el antígeno diana del componente de direccionamiento.

En modalidades particulares, un componente de señalización y un componente de direccionamiento comprenden un par cognado de dominios de multimerización seleccionados del grupo que consiste en: Proteína de unión a FK506 1A (FKBP12) y unión a rapamicina-FKBP12 (FRB), FKBP12 y calcineurina, FKBP y ciclofilina A o cualquier otro miembro de la familia de las peptidil-prolil cis-trans isomerasas (PPlasa), FKBP y dihidrofolato reductasa (DHFR), calcineurina y ciclofilina A o cualquier otro miembro de la familia de las peptidil-prolil cis-trans isomerasas (PPlasa), y similar a PYR1 1 (PYL1) e insensible al ácido abscísico 1 (ABI1).

En ciertas modalidades, los dominios de multimerización de los componentes de señalización y direccionamiento se asocian con un factor de formación de puente seleccionado del grupo que consiste en: rapamicina o un rapálogo de esta, coumermicina o un derivado de esta, giberelina o un derivado de esta, ácido abscísico (ABA) o un derivado de este, metotrexato o un derivado de este, ciclosporina A o un derivado de esta, FK506/ciclosporina A (FKCsA) o un derivado de este, y ligando sintético de trimetoprima (Tmp) para la proteína de unión a FK506 (FKBP) (SLF) o un derivado de este.

En modalidades particulares, un componente de señalización y un componente de direccionamiento comprenden uno o más dominios de multimerización de FRB y/o FKBP o variantes de estos. En ciertas modalidades, un componente de señalización comprende un dominio de multimerización de FKBP12 o variante de este y un componente de direccionamiento comprende un dominio de multimerización de FRB o variante de este. En ciertas modalidades, un componente de señalización comprende un dominio de multimerización

de FRB o variante de este y un componente de direccionamiento comprende un dominio de multimerización de FKBP12 o variante de este. En modalidades particulares preferidas, un componente de señalización comprende un dominio de multimerización de FKBP12 o FKBP12 F36V o variante de este, y un componente de direccionamiento comprende un dominio de

5 multimerización de FRB T2098L o variante de este. En modalidades particulares preferidas, un componente de señalización de CD3 comprende un dominio de multimerización de FRB T2098L (T82L) o variante de este, y un componente de direccionamiento comprende un dominio de multimerización de FKBP12 o FKBP12 F36V o variante de este.

Los ejemplos ilustrativos de factores de formación de puentes adecuados para su uso en
10 modalidades particulares contempladas en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, AP1903, AP20187, AP21967 (también conocida como C-16-(S)-7-metilindolrapamicina), everolimus, novolimus, pimecrolimus, ridaforolimus, sirolimus, tacrolimus, temsirolimus, umirolimus, zotarolimus, y BPC015. En modalidades particulares preferidas, el factor de formación de puentes es AP21967. En ciertas modalidades preferidas, el factor de formación de
15 puentes es una dosis no inmunosupresora de sirolimus (rapamicina).

D. RECEPTORES DE ANTÍGENO Y MOLÉCULAS DE UNIÓN

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias contempladas en la presente descripción expresan además un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente y uno o más componentes de un complejo o sistema de
20 receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción. En algunas modalidades, el receptor de linfocitos exógeno o el receptor de antígenos modificado genéticamente es un receptor de antígeno quimérico (CAR), un receptor coestimulador quimérico (CCR), un receptor de células T (TCR), un receptor de células $\alpha\beta$ -T ($\alpha\beta$ -TCR), un receptor de células $\gamma\delta$ -T ($\gamma\delta$ -TCR), zetacina o receptor de flip. En algunas modalidades, las
25 células efectoras inmunitarias contempladas en la presente descripción expresan un factor coestimulador exógeno, un factor inmunomodulador, un agonista para un factor coestimulador,

un antagonista para un factor inmunosupresor, un acoplador de células inmunitarias, o cualquier combinación de estos. En algunas modalidades, las células efectoras inmunitarias contempladas en la presente descripción expresan además un BiTE.

En varias modalidades, el receptor de linfocitos exógeno o el receptor de antígenos modificado genéticamente es un receptor de células $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ T (TCR) modificado genéticamente, un receptor de antígeno quimérico (CAR) o un receptor coestimulador quimérico (CCR). En modalidades particulares, el receptor de linfocitos exógeno es un receptor de células $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ T modificado genéticamente. En modalidades particulares, el receptor de antígenos modificado genéticamente es un receptor de antígeno quimérico (CAR). En modalidades particulares, el receptor de antígenos modificado genéticamente es un receptor coestimulador quimérico (CCR). En varias modalidades, las células efectoras inmunitarias contempladas en la presente descripción comprenden un TCR modificado genéticamente/exógeno, y uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción. Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, los componentes de señalización de los componentes/sistemas de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción comprenden un dominio de multimerización fusionado a un dominio accionador (por ejemplo, la subunidad CD3 ϵ , CD3 δ , CD3 γ , o Fc γ) que se asocia con un complejo de receptor inmunitario multimérico, y por lo tanto, en presencia de factor de formación de puentes recluta un complejo de receptor inmunitario mediante multimerización con el componente de direccionamiento que comprende un segundo dominio de multimerización.

En una modalidad, las células T se modifican genéticamente mediante la introducción de un polinucleótido o vector que codifica un receptor de antígenos modificado genéticamente (por ejemplo, TCR, CAR, o CCR) y uno o más componentes de un sistema de receptor inmunitario modificado genéticamente separado por una o más señales de escisión de polipéptidos. En una modalidad, las células T se modifican genéticamente mediante la introducción de un polinucleótido o vector que codifica un receptor de antígenos modificado genéticamente y un

polinucleótido o vector que codifica uno o más componentes de un sistema de receptor inmunitario. En una modalidad, las células T modificadas genéticamente para expresar un receptor inmunitario modificado genéticamente se modifican adicionalmente mediante la introducción de un polinucleótido o vector que codifica uno o más componentes de un sistema de receptor inmunitario.

Los receptores de células T de origen natural comprenden dos subunidades, una subunidad de cadena alfa y de cadena beta ($\alpha\beta$ TCR), o una subunidad de cadena gamma y de cadena delta ($\gamma\delta$ TCR), cada una de las cuales es una proteína única producida por un evento de recombinación en el genoma de cada célula T. Las bibliotecas de TCR pueden tamizarse para determinar su selectividad con antígenos diana particulares. De esta manera, los TCR naturales, que tienen una alta avidéz y reactividad hacia los antígenos diana pueden seleccionarse, clonarse y subsecuentemente introducirse en una población de células T usadas para la inmunoterapia adoptiva. En una modalidad, el TCR es un $\alpha\beta$ TCR. En una modalidad, el TCR es un $\gamma\delta$ TCR.

En una modalidad, las células T se modifican mediante la introducción de una subunidad de TCR que tiene la capacidad de formar TCR que confieren especificidad a las células T para las células que expresan un antígeno diana. En modalidades particulares, las subunidades tienen una o más sustituciones, eliminaciones, inserciones o modificaciones de aminoácidos en comparación con la subunidad de origen natural, siempre que las subunidades retengan la capacidad de formar TCR y confiera a las células T transfectadas la capacidad de alojarse en el hogar hasta las células diana y participar en la señalización de citocinas inmunológicamente relevante. Los TCR modificados genéticamente preferentemente también se unen a las células diana que muestran el péptido relevante (p. ej., un péptido asociado al tumor) con alta avidéz, y opcionalmente median la muerte eficiente de las células diana que presentan el péptido relevante *in vivo*.

Los ácidos nucleicos que codifican los TCR modificados genéticamente se aíslan preferentemente de su contexto natural en un cromosoma (de origen natural) de una célula T, y pueden incorporarse en vectores adecuados como se describe en otra parte de la presente descripción. Tanto los ácidos nucleicos como los vectores que los comprenden pueden transferirse a una célula, preferentemente a una célula T en modalidades particulares. Las células T modificadas son entonces capaces de expresar una o más cadenas de un TCR codificado por el ácido nucleico o ácidos nucleicos transducidos. En modalidades preferidas, el TCR es un TCR exógeno porque se introduce en células T que normalmente no expresan el TCR particular. En modalidades particulares, el aspecto esencial del TCR es que tiene una alta avidez por un antígeno presentado por un complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) o un componente inmunológico similar. En contraste con los TCR, los CAR se modifican genéticamente para unirse a antígenos diana de una manera independiente del MHC.

El TCR puede expresarse con polipéptidos adicionales unidos a la porción amino terminal o carboxilo terminal de la cadena alfa o la cadena beta de un TCR, o de la cadena gamma o la cadena delta de un TCR siempre que el polipéptido adicional unido no interfiera con la capacidad de la cadena alfa o la cadena beta para formar un receptor funcional de células T y el reconocimiento de antígenos dependiente del MHC.

Los antígenos reconocidos por los TCR contemplados en modalidades particulares incluyen, pero no se limitan a, antígenos de cáncer, que incluyen antígenos tanto en cánceres hematológicos como en tumores sólidos. Los antígenos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a α -fetoproteína (AFP), miembros de la familia de antígenos de melanoma B (BAGE), hermano del regulador de sitios impresos (BORIS), antígenos cancerosos-testiculares, antígeno canceroso-testicular 83 (CT-83), anhidrasa carbónica IX (CA1X), antígeno carcinoembrionario (CEA), antígenos de citomegalovirus (CMV), antígeno o melanoma reconocido por célula T citotóxica (CTL) (CAMEL), antígenos del virus de Epstein-Barr (EBV), antígeno G 1 (GAGE-1),

GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7B, GAGE-8, glicoproteína 100 (GP100), antígenos del virus de la hepatitis B (HBV), proteína no estructural 3 (NS3) del virus de la hepatitis C (HCV), receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER-2), papilomavirus humano (HPV)-E6, HPV-E7, telomerasa transcriptasa inversa humana (hTERT),
5 IGF2BP3/A3, K-Ras, K-Ras G12C, K-Ras G12D, K-Ras G12V, proteína de membrana latente 2 (LMP2), familia de antígenos del melanoma A 1 (MAGE-A1), MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A10, MAGE-A12, antígeno de melanoma reconocido por células T (MART-1), mesotelina (MSLN), mucina 1 (MUC1), mucina 16 (MUC16), carcinoma de células escamosas esofágicas de Nueva York 1 (NYESO-1), P53, miembros de la familia de antígenos P (PAGE),
10 específico de la placenta 1 (PLAC1), antígeno expresado preferencialmente en el melanoma (PRAME), survivina, sarcoma sionvial X 1 (SSX1), sarcoma sionvial X 2 (SSX2), sarcoma sionvial X 3 (SSX3), sarcoma sionvial X 4 (SSX4), sarcoma sionvial X 5 (SSX5), sarcoma sionvial X 8 (SSX8), tiroglobulina, tirosinasa, proteína relacionada con la tirosinasa (TRP)1, TRP2, proteína del tumor de Wilms (WT-1), miembro 1 de la familia de antígenos X (XAGE1), y
15 miembro 2 de la familia de antígenos X (XAGE2).

En otras modalidades, las células efectoras inmunitarias contempladas en la presente descripción comprenden un CAR y uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción. Los receptores de antígeno quiméricos (CAR) son moléculas que combinan la especificidad basada en anticuerpos para un
20 antígeno diana (por ejemplo, antígeno tumoral) con un dominio intracelular de activación del receptor de células T para generar una proteína quimérica que exhibe una actividad inmunitaria celular antitumoral específica. Como se usa en la presente, el término "quimérico" describe que se compone de partes de diferentes proteínas o ADN de diferentes orígenes.

En otras modalidades, las células efectoras inmunitarias contempladas en la presente
25 descripción comprenden un CCR y uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción. A diferencia de los CAR, los

receptores coestimuladores quiméricos (CCR) son moléculas que combinan la especificidad basada en anticuerpos por un antígeno deseado con un dominio coestimulador de receptores de células T pero que carece de un dominio de señalización primario (ver, por ejemplo, WO2020/252110 y WO2021/211948).

5 En otras modalidades, las células efectoras inmunitarias contempladas en la presente descripción expresan un acoplador biespecífico de células T (BiTE, por sus siglas en inglés) y uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción. Los BiTE son moléculas que comprenden dos fragmentos de anticuerpo diferentes (por ejemplo, fragmentos variables monocatenarios (scFvs)) conectados
10 por un péptido enlazador pequeño, en donde un fragmento de anticuerpo se une a un componente del complejo de receptor de células T (TCR) (por ejemplo, una cadena de CD3), y el otro fragmento de anticuerpo se une a otro antígeno (por ejemplo, un antígeno asociado a un tumor).

 En otras modalidades, las células efectoras inmunitarias contempladas en la presente
15 descripción comprenden un receptor de flip y uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción. Un receptor de flip comprende una porción extracelular de un receptor, un dominio transmembrana, y una porción de señalización intracelular de un receptor diferente. Por lo tanto, un receptor de flip “convierte” las propiedades de unión de un tipo de receptor en el evento de señalización intracelular de otro
20 tipo de receptor. Ver, por ejemplo, WO2018/094244, WO2016/122738, WO2014/172584, y WO2012/138858.

 En ciertas modalidades, el CAR, CCR, acoplador de células inmunitarias, BiTE, o receptor de flip se une a un antígeno diana seleccionado del grupo que consiste en: receptor de folato alfa (FR α), integrina $\alpha_v\beta_6$, antígeno de maduración de células B (BCMA, por sus siglas en
25 inglés), B7-H3 (CD276), B7-H6, anhidrasa carbónica IX (CAIX), CD16, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD37, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD70, CD79a, CD79b, CD123, CD133,

CD138, CD171, antígeno carcinoembrionario (CEA), molécula 1 similar a la lectina tipo C (CLL-1), subconjunto CD2 1 (CS-1), proteoglicano de sulfato de condroitina 4 (CSPG4), antígeno asociado a linfoma cutáneo de células T 1 (CTAGE1), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR, por sus siglas en inglés), variante III del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFRvIII), glicoproteína epitelial 2 (EGP2), glicoproteína epitelial 40 (EGP40),
5 molécula de adhesión de células epiteliales (EPCAM), receptor de efrina tipo-A 2 (EPHA2), proteína de activación de fibroblastos (FAP, por sus siglas en inglés), proteína similar al receptor de Fc 5 (FCRL5), receptor de acetilcolinesterasa fetal (AChR), gangliósido G2 (GD2), gangliósido G3 (GD3), Glipicano-3 (GPC3), familia de EGFR que incluye ErbB2 (HER2),
10 IGF2BP3/A3, IL-10R α , IL-13R α 2, Kappa, antígeno de cáncer/testicular 2 (LAGE-1A), K-Ras, K-Ras G12C, K-Ras G12D, K-Ras G12V, Lambda, Lewis-Y (LeY), molécula de adhesión celular L1 (L1-CAM), gen de antígeno de melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGEA10, antígeno de melanoma reconocido por células T 1 (MelanA o MART1), Mesotelina (MSLN), MUC1, MUC16, proteínas A relacionadas con la cadena de MHC clase I (MICA),
15 proteínas B relacionadas con la cadena de MHC clase I (MICB), molécula de adhesión de células neurales (NCAM), antígeno de cáncer/testicular 1 (NY-ESO-1), ácido polisialico; proteína específica de la placenta 1 (PLAC1), antígeno expresado preferencialmente en el melanoma (PRAME), antígeno de célula madre prostática (PSCA, por sus siglas en inglés), antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA, por sus siglas en inglés), receptor
20 huérfano similar al receptor de tirosina cinasa 1 (ROR1), sarcoma sinovial, punto de ruptura X 2 (SSX2), survivina, glicoproteína asociada a tumor 72 (TAG72), proteína activadora transmembrana e interactiva del CAML (TACI), marcador tumoral endotelial 1 (TEM1/CD248), proteína relacionada con el marcador tumoral endotelial 7 (TEM7R), glicoproteína trofoblástica (TPBG), proteína de unión a UL16 (ULBP) 1, ULBP2, ULBP3, ULBP4, ULBP5, ULBP6, receptor
25 de factor de crecimiento endotelial vascular 2 (VEGFR2), y tumor de Wilms 1 (WT-1).

En modalidades particulares, el CAR o CCR se une a un antígeno diana seleccionado del grupo que consiste en: BCMA, CD33, CD20, CD79a, CD79b, CLL-1, IGF2BP3/A3, MUC16, NY-ESO, PRAME, TACI, y TP53.

En varias modalidades, las células efectoras inmunitarias contempladas en la presente descripción comprenden una o más cadenas de un receptor de zetacina y uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción. Las zetacinas son inmunorreceptores transmembrana quiméricos que comprenden un dominio extracelular que comprende un ligando receptor soluble unido a una región de soporte capaz de unir el dominio extracelular a una superficie celular, una región transmembrana y un dominio de señalización intracelular. Las zetacinas, cuando se expresan en la superficie de los linfocitos T, dirigen la actividad de las células T a aquellas células que expresan un receptor para el que el ligando del receptor soluble es específico. Los inmunorreceptores quiméricos de zetacina redirige la especificidad de antígeno de las células T, con aplicación al tratamiento de una variedad de cánceres, particularmente a través de los sistemas de citocinas autocrinas/paracrinias utilizados por neoplasias malignas humanas.

En otras modalidades, las células efectoras inmunitarias se modifican mediante la introducción de una subunidad de receptor de Fc (FcR) que tiene la capacidad de unirse a la porción/región de fragmento cristalizable (Fc) de un anticuerpo, y uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción. En algunas modalidades, la subunidad de FcR puede ser de un receptor de Fc-gamma, un receptor de Fc-alfa, o un receptor de Fc-epsilón. Véase, por ejemplo, Mkaddem *et al.*, *Front Immunol.* 12 de abril de 2019;10:811.

En otras modalidades, las células efectoras inmunitarias se modifican mediante la introducción del receptor NKG2D, y uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción.

E. POLIPÉPTIDOS

En la presente descripción se contemplan varios polipéptidos, que incluyen, pero no se limitan a, un sistema de receptor inmunitario modificado genéticamente, componentes de direccionamiento, componentes de señalización, receptores inmunitarios y sus subunidades asociadas o moléculas adaptadoras, receptor de linfocitos exógeno, receptores de antígenos modificados genéticamente, TCR, FcR, CAR, CCR, BiTE, zetacinas, receptores de flip, factores coestimuladores exógenos, factores inmunomoduladores, agonista de factores coestimuladores, antagonista de factores inmunosupresores, acopladores de células inmunitarias, o cualquier combinación de estos. En la presente descripción también se contemplan proteínas de fusión que comprenden los polipéptidos anteriores, y fragmentos de estos. En modalidades preferidas, un polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 107-115, 116-138, o 139-170.

"Polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente, a menos que se especifique lo contrario, y de acuerdo con el significado convencional, es decir, como una secuencia de aminoácidos. En una modalidad, un "polipéptido" incluye polipéptidos de fusión y otras variantes. Los polipéptidos pueden prepararse mediante el uso de cualquiera de una variedad de técnicas recombinantes y/o sintéticas bien conocidas. Los polipéptidos no se limitan a una longitud específica, por ejemplo, pueden comprender una secuencia de proteína de longitud completa, un fragmento de una proteína de longitud completa, o una proteína de fusión, y pueden incluir modificaciones postraduccionales del polipéptido, por ejemplo, glicosilaciones, acetilaciones, fosforilaciones y similares, así como también otras modificaciones conocidas en la técnica, tanto de origen natural como de origen no natural. En modalidades particulares preferidas, los polipéptidos de fusión, polipéptidos, fragmentos y otras variantes de estos se preparan, obtienen o aíslan de uno o más polipéptidos humanos.

Un "péptido aislado" o un "polipéptido aislado" y similares, como se usa en la presente descripción, se refieren al aislamiento y/o purificación in vitro de una molécula peptídica o

polipeptídica de un entorno celular, y de la asociación con otros componentes de la célula, es decir, no se asocia significativamente con sustancias in vivo. En modalidades particulares, un polipéptido aislado es un polipéptido sintético, un polipéptido semisintético, o un polipéptido obtenido o derivado de una fuente recombinante.

5 Los polipéptidos incluyen "variantes polipeptídicas". Las variantes polipeptídicas pueden diferir de un polipéptido de origen natural en una o más sustituciones, eliminaciones, adiciones y/o inserciones. Tales variantes pueden ser de origen natural o pueden generarse sintéticamente, por ejemplo, modificando una o más de las secuencias polipeptídicas anteriores. Por ejemplo, en modalidades particulares, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u

10 otras propiedades biológicas de un polipéptido mediante la introducción de una o más sustituciones, eliminaciones, adiciones y/o inserciones en el polipéptido. En modalidades particulares, los polipéptidos incluyen polipéptidos que tienen al menos alrededor de 65 %, 66 %, 67 %, 68 %, 69 %, 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 86

15 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad aminoacídica con respecto a cualquiera de las secuencias de referencia contempladas en la presente descripción, típicamente donde la variante mantiene al menos una actividad biológica de la secuencia de referencia. En modalidades particulares, la actividad biológica es afinidad de unión. En modalidades particulares, la actividad biológica es actividad enzimática.

20 En ciertas modalidades, un componente de receptor inmunitario modificado genéticamente como se describe en la presente descripción recluta un complejo de receptor inmunitario multimérico que comprende (i) un componente de señalización, por ejemplo, un primer polipéptido de fusión, que tiene un primer dominio de multimerización y un dominio accionador y (ii) un componente de direccionamiento, por ejemplo, un segundo polipéptido de

25 fusión, que tiene un segundo dominio de multimerización, un dominio extracelular y un dominio transmembrana. En modalidades particulares, los dominios de multimerización son iguales; en

ciertas modalidades, el primer dominio de multimerización es diferente del segundo dominio de multimerización. El primer y el segundo dominios de multimerización contribuyen sustancialmente o promueven eficientemente la formación del complejo polipeptídico, p. ej., en presencia de un factor de formación de puentes. La o las interacciones entre el primer y el

5 segundo dominios de multimerización contribuyen esencialmente o promueven eficientemente la multimerización del primer y el segundo polipéptidos de fusión si hay una reducción estadísticamente significativa en la asociación entre el primer y el segundo polipéptidos de fusión en ausencia del primer dominio de multimerización, el segundo dominio de multimerización, o el factor de formación de puentes. En ciertas modalidades, cuando el primer

10 y el segundo polipéptidos de fusión se coexpresan, al menos de aproximadamente 60 %, por ejemplo, al menos de aproximadamente 60 % a aproximadamente 70 %, al menos de aproximadamente 70 % a aproximadamente 80 %, al menos de aproximadamente 80 % a aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 %, y al menos de aproximadamente 90 % a aproximadamente 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %,

15 98 %, o 99 % del primer y el segundo polipéptidos monocatenarios forman multímeros entre sí en presencia de un factor de formación de puentes.

Las variantes polipeptídicas incluyen "fragmentos polipeptídicos" biológicamente activos. Los ejemplos ilustrativos de fragmentos polipeptídicos biológicamente activos incluyen dominios de unión, dominios de señalización intracelular, y similares. Como se usa en la presente, el

20 término "fragmento biológicamente activo" o "fragmento biológicamente activo mínimo" se refiere a un fragmento polipeptídico que retiene al menos 100 %, al menos 90 %, al menos 80 %, al menos 70 %, al menos 60 %, al menos 50 %, al menos 40 %, al menos 30 %, al menos 20 %, al menos 10 %, o al menos 5 % de la actividad polipeptídica de origen natural. En ciertas modalidades, un fragmento polipeptídico puede comprender una cadena de aminoácidos de al

25 menos 5 a alrededor de 1700 aminoácidos de largo. Se apreciará que en ciertas modalidades, los fragmentos son al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23,

24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700 o más aminoácidos de largo.

5 En modalidades particulares, los polipéptidos expuestos en la presente descripción pueden comprender uno o más aminoácidos indicados como "X". "X" si está presente en una SEQ ID NO de aminoácido, se refiere a uno o más cualesquiera aminoácidos. En modalidades particulares, las SEQ ID NO que indican una proteína de fusión comprenden una secuencia de residuos X continuos que representan de manera acumulativa cualquier secuencia de
10 aminoácidos.

 Como se indicó anteriormente, los polipéptidos pueden alterarse de varias maneras que incluyen sustituciones, eliminaciones, truncamientos e inserciones de aminoácidos. Los métodos para tales manipulaciones se conocen generalmente en la técnica. Por ejemplo, las variantes de secuencias de aminoácidos de un polipéptido de referencia pueden prepararse
15 mediante mutaciones en el ADN. Los métodos para la mutagénesis y las alteraciones de las secuencias de nucleótidos se conocen bien en la técnica. Ver, por ejemplo, Kunkel (1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 82: 488-492), Kunkel *et al.*, (1987, *Methods in Enzymol*, 154: 367-382), patente de EE. UU. núm. 4,873,192, Watson, J. D. *et al.*, (*Molecular Biology of the Gene*, cuarta edición, Benjamin/Cummings, Menlo Park, Calif., 1987) y las referencias citadas en estos. La
20 orientación sobre las sustituciones de aminoácidos apropiadas que no afectan la actividad biológica de la proteína de interés puede encontrarse en el modelo de Dayhoff *et al.*, (1978) *Atlas of Protein Sequence and Structure (Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.)*.

 En ciertas modalidades, una variante polipeptídica comprende una o más sustituciones conservadoras. Una "sustitución conservadora" es una en la que un aminoácido se sustituye por
25 otro aminoácido que tiene propiedades similares, de manera que un experto en la técnica de la química peptídica esperaría que la estructura secundaria y la naturaleza hidropática del

polipéptido no cambiasen sustancialmente. Pueden realizarse modificaciones en la estructura de los polinucleótidos y polipéptidos contemplados en modalidades particulares y aún obtener una molécula funcional que codifica una variante o polipéptido derivado con características convenientes. Cuando se desea alterar la secuencia de aminoácidos de un polipéptido para

- 5 crear una variante polipeptídica equivalente, o incluso una mejorada, un experto en la técnica, por ejemplo, puede cambiar uno o más de los codones de la secuencia de ADN codificante, por ejemplo, de acuerdo con la Tabla 1.

TABLA 1 - Codón de aminoácidos

Aminoácidos	Código de una letra	Código de tres letras	Codones					
Alanina	A	Ala	GCA	GCC	GCG	GCU		
Cisteína	C	Cys	UGC	UGU				
Ácido aspártico	D	Asp	GAC	GAU				
Ácido glutámico	E	Glu	GAA	GAG				
Fenilalanina	F	Phe	UUC	UUU				
Glicina	G	Gly	GGA	GGC	GGG	GGU		
Histidina	H	His	CAC	CAU				
Isoleucina	I	Iso	AUA	AUC	AUU			
Lisina	K	Lis	AAA	AAG				
Leucina	L	Leu	UUA	UUG	CUA	CUC	CUG	CUU
Metionina	M	Met	AUG					

Asparagina	N	Asn	AAC	AAU				
Prolina	P	Pro	CCA	CCC	CCG	CCU		
Glutamina	Q	Gln	CAA	CAG				
Arginina	R	Arg	AGA	AGG	CGA	CGC	CGG	CGU
Serina	S	Ser	AGC	AGU	UCA	UCC	UCG	UCU
Treonina	T	Thr	ACA	ACC	ACG	ACU		
Valina	V	Val	GUA	GUC	GUG	GUU		
Triptófano	W	Trp	UGG					
Tirosina	Y	Tyr	UAC	UAU				

La orientación para determinar qué residuos de aminoácidos pueden sustituirse,

insertarse o eliminarse sin suprimir la actividad biológica puede encontrarse mediante el uso de programas informáticos bien conocidos en la técnica, tales como DNASTAR, DNA Strider, Geneious, Mac Vector, o Vector NTI software. Preferentemente, los cambios de aminoácidos en

- 5 las variantes de proteínas descritas en la presente descripción son cambios de aminoácidos conservadores, *es decir*, sustituciones de aminoácidos cargados de manera similar o sin carga. Un cambio conservador de aminoácidos implica la sustitución de uno de una familia de aminoácidos que están relacionados en sus cadenas laterales. Los aminoácidos de origen natural se dividen generalmente en cuatro familias: aminoácidos ácidos (aspartato, glutamato),
- 10 básicos (lisina, arginina, histidina), no polares (alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano) y polares no cargados (glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina). La fenilalanina, el triptófano y la tirosina a veces se clasifican conjuntamente como aminoácidos aromáticos. En un péptido o proteína, los expertos en esta técnica conocen las sustituciones conservadoras adecuadas de aminoácidos y generalmente
- 15 pueden producirse sin alterar una actividad biológica de una molécula resultante. Los expertos en esta técnica reconocen que, en general, las sustituciones de un solo aminoácido en regiones

no esenciales de un polipéptido no alteran sustancialmente la actividad biológica (ver, por ejemplo, Watson y otros Molecular Biology of the Gene, 4a edición, 1987, The Benjamin/Cummings Pub. Co., pág. 224).

En una modalidad, donde se desea la expresión de dos o más polipéptidos, las
5 secuencias polinucleotídicas que los codifican pueden separarse por una secuencia de IRES.

Los polipéptidos contemplados en modalidades particulares incluyen polipéptidos de fusión. En modalidades particulares, se proporcionan polipéptidos de fusión y polinucleótidos que codifican polipéptidos de fusión. Los polipéptidos de fusión y las proteínas de fusión se refieren a un polipéptido que tiene al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, o
10 diez, o más segmentos polipeptídicos. En modalidades preferidas, un polipéptido de fusión comprende uno o más de los componentes descritos en la presente descripción. En otras modalidades preferidas, el polipéptido de fusión comprende un componente de direccionamiento y un componente de señalización.

En modalidades particulares, dos o más componentes de receptor inmunitario
15 modificado genéticamente y/u otros polipéptidos pueden expresarse como una proteína de fusión que comprende una o más secuencias de péptidos de autoescisión entre los polipéptidos como se describe en otra parte de la presente descripción.

En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de direccionamiento y uno o más componentes de señalización.

20 Los polipéptidos de fusión pueden comprender uno o más dominios o segmentos polipeptídicos que incluyen, pero no se limitan a, péptidos señal, dominios peptídicos permeables a las células (CPP, por sus siglas en inglés), dominios de unión, dominios de señalización, etc., etiquetas de epítipo (por ejemplo, proteína de unión a maltosa ("MBP", por sus siglas en inglés), glutatión S transferasa (GST), HIS6, MYC, FLAG, V5, VSV-G, y HA),
25 enlazadores polipeptídicos, y señales de escisión polipeptídica. Los polipéptidos de fusión se unen típicamente del extremo C al extremo N, aunque también pueden unirse al extremo C, del

extremo N al extremo N o del extremo N al extremo C. En modalidades particulares, los polipéptidos de la proteína de fusión pueden estar en cualquier orden. Los polipéptidos de fusión o proteínas de fusión pueden incluir, además, variantes, variantes polimórficas, alelos, mutantes, subsecuencias y homólogos de interespecies modificados conservadoramente, siempre que se conserve la actividad deseada del polipéptido de fusión. Los polipéptidos de fusión pueden producirse mediante métodos químicos sintéticos o mediante enlace químico entre las dos fracciones o pueden prepararse generalmente mediante el uso de otras técnicas estándar. Las secuencias de ADN ligadas que comprenden el polipéptido de fusión se unen operativamente a elementos de control transcripcional o traduccional adecuados como se describe en otra parte de la presente descripción.

Los polipéptidos de fusión pueden comprender opcionalmente uno o más enlazadores que pueden usarse para unir el uno o más polipéptidos o dominios dentro de un polipéptido. Una secuencia enlazadora peptídica puede emplearse para separar dos o más componentes polipeptídicos cualquiera una distancia suficiente para asegurar que cada polipéptido se pliegue en sus estructuras secundarias y terciarias apropiadas para permitir que los dominios polipeptídicos ejerzan sus funciones deseadas. Tal secuencia enlazadora peptídica se incorpora en el polipéptido de fusión mediante el uso de técnicas estándar en la técnica. Las secuencias enlazadoras peptídicas adecuadas pueden elegirse en base a los siguientes factores: (1) su capacidad para adoptar una conformación extendida flexible; (2) su incapacidad para adoptar una estructura secundaria que pueda interactuar con epítomos funcionales en el componente de señalización y el componente de direccionamiento; y (3) la falta de residuos hidrófobos o cargados que puedan reaccionar con los epítomos funcionales polipeptídicos. En modalidades particulares, las secuencias enlazadoras peptídicas preferidas contienen residuos de Gly, Asn y Ser. Otros aminoácidos casi neutros, tales como Thr y Ala también pueden usarse en la secuencia enlazadora. Las secuencias de aminoácidos que pueden emplearse útilmente como enlazadores incluyen las descritas en Maratea *et al.*, *Gene* 40:39-46, 1985; Murphy *et al.*, *Proc.*

Natl. Acad. Sci. USA 83:8258-8262, 1986; patente de Estados Unidos núm. 4,935,233 y patente de Estados Unidos núm. 4,751,180. No se requieren secuencias enlazadoras cuando un segmento del polipéptido de fusión particular contiene regiones de aminoácidos no esenciales del extremo N que pueden usarse para separar los dominios funcionales y evitar interferencias estéricas. En modalidades particulares, los enlazadores preferidos son típicamente subsecuencias de aminoácidos flexibles que se sintetizan como parte de una proteína de fusión recombinante. Los polipéptidos enlazadores pueden tener entre 1 y 200 aminoácidos de longitud, entre 1 y 100 aminoácidos de longitud, o entre 1 y 50 aminoácidos de longitud, que incluyen todos los valores enteros intermedios.

Las señales de escisión polipeptídica ilustrativas incluyen sitios de reconocimiento de escisión polipeptídica tales como sitios de escisión por proteasas, sitios de escisión por nucleasas (por ejemplo, sitios de reconocimiento de enzimas de restricción raras, sitios de reconocimiento de ribozimas de autoescisión), y oligopéptidos virales de autoescisión (ver deFelipe y Ryan, 2004. *Traffic*, 5(8); 616-26).

El experto en la técnica conoce los sitios de escisión por proteasas y los péptidos de autoescisión adecuados (ver, por ejemplo, en Ryan y otros, 1997. *J. Gener. Virol.* 78, 699-722; Scymczak y otros (2004) *Nature Biotech.* 5, 589-594). Los sitios de escisión por proteasas ilustrativos incluyen, pero sin limitarse a, los sitios de escisión de las Nla proteasas de potyvirus (*por ejemplo*, proteasa del virus del grabado del tabaco), HC proteasas de potyvirus, P1 (P35) proteasas de potyvirus, Nla proteasas de byovirus, proteasas codificadas por RNA-2 de byovirus, L proteasas de aftovirus, 2A proteasas de enterovirus, 2A proteasas de comovirus, 3C proteasas de picoma, 24K proteasas, 24K proteasas de nepovirus, similar a 3C proteasa de RTSV (vírico esférico tungro de arroz), similar a 3C proteasa de PYVF (virus de la coca amarilla) proteasa, heparina, trombina, factor Xa y enteroquinasa. Debido a su alta rigurosidad de escisión, los sitios de escisión de la proteasa de TEV (virus del grabado del tabaco) se prefieren en una modalidad, por ejemplo, EXXYXQ(G/S) (SEQ ID NO: 195), por ejemplo,

ENLYFQG (SEQ ID NO: 196) y ENLYFQS (SEQ ID NO: 197), en donde X representa cualquier aminoácido (se produce escisión por TEV entre Q y G o Q y S).

En modalidades particulares, la señal de escisión polipeptídica es un péptido de autoescisión viral o secuencia de salto de ribosoma.

5 Los ejemplos ilustrativos de secuencias de salto de ribosoma incluyen, pero no se limitan a: un sitio, secuencia o dominio 2A o similar a 2A (Donnelly *et al.*, 2001. *J. Gen. Virol.* 82:1027-1041). En una modalidad particular, el péptido 2A viral es un péptido 2A de aftovirus, un péptido 2A de potyvirus o un péptido 2A de cardiovirus.

10 En una modalidad, el péptido 2A viral se selecciona del grupo que consiste en: un péptido del virus de la enfermedad del pie y la boca (FMDV) 2A, un péptido del virus de la rinitis equina A (ERAV) 2A, un péptido del virus de Thosa asigna (TaV) 2A, un péptido del teschovirus-1 porcino (PTV-1) 2A, un péptido del Theilovirus 2A, y un péptido del virus de la encefalomiocarditis 2A.

En la **Tabla 2** se proporcionan ejemplos ilustrativos de sitios 2A.

15 **TABLA 2:**

SEQ ID NO: 171	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
SEQ ID NO: 172	ATNFSLLKQAGDVEENPGP
SEQ ID NO: 173	LLKQAGDVEENPGP
SEQ ID NO: 174	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP
SEQ ID NO: 175	EGRGSLLTCGDVEENPGP
SEQ ID NO: 176	LLTCGDVEENPGP
SEQ ID NO: 177	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 178	QCTNYALLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 179	LLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 180	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

SEQ ID NO: 181	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 182	LLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 183	LLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 184	TLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 185	LLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 186	NFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 187	QLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 188	APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 189	VTELLYRMKRAETYCPRLLAIHPTEARHKQKIVAPVKQT
SEQ ID NO: 190	LNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 191	LLAIHPTEARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 192	EARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

En modalidades particulares, los polipéptidos de autoescisión (p. ej., péptidos 2A)

comprenden una secuencia separadora SGSG (SEQ ID NO: 193). En modalidades particulares, los polipéptidos de autoescisión (p. ej., péptidos 2A) comprenden un sitio de reconocimiento de furina, p. ej., una secuencia separadora RAKR (SEQ ID NO: 194).

5 En modalidades preferidas, un polipéptido o polipéptido de fusión comprende uno o más receptores o componentes inmunitarios modificados genéticamente. En modalidades preferidas, un polipéptido de fusión comprende uno o más receptores o componentes inmunitarios modificados genéticamente separados por uno o más polipéptidos de autoescisión.

10 En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un primer dominio de multimerización y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor inmunitario (por ejemplo, un dominio CD3 ϵ , CD3 δ o CD3 γ ; un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular (que comprende al menos un primer

dominio de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, que se une a un antígeno diana)), un segundo dominio de multimerización, y un dominio transmembrana.

5 En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un primer dominio de multimerización y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor inmunitario (por ejemplo, un dominio CD3 ϵ , CD3 δ o CD3 γ ; un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular (que comprende al menos un primer dominio de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, que se une a un antígeno diana)), un segundo dominio de multimerización, un dominio 10 bisagra de CD4, y un dominio transmembrana CD4.

En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un primer dominio de multimerización y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor inmunitario (por ejemplo, un dominio 15 CD3 ϵ , CD3 δ o CD3 γ ; un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular (que comprende al menos un primer dominio de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, que se une a un antígeno diana)), un segundo dominio de multimerización, un dominio bisagra de CD4, un dominio transmembrana CD4, y un dominio CD4ic truncado.

20 En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un dominio de multimerización FRB o FKBP12 y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor inmunitario (por ejemplo, un dominio CD3 ϵ , CD3 δ o CD3 γ ; un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular que comprende un 25 VHH o scFv que une un antígeno diana, un dominio de multimerización FRB o FKBP12, una bisagra de CD4, un dominio transmembrana CD4, y un dominio CD4ic truncado.

En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un dominio de heterodimerización derivado de anticuerpo, dominio de multimerización y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor inmunitario (por ejemplo, un dominio CD3 ϵ , CD3 δ o CD3 γ ; un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un VHH o scFv que une un antígeno diana, un dominio de heterodimerización derivado de anticuerpo, una bisagra de CD4, un dominio transmembrana CD4, un dominio CD4ic truncado, y opcionalmente, un dominio de señalización intracelular de receptor de citocina o coestimulador.

En modalidades particulares, los polipéptidos de fusión comprenden una secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 139-170.

En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un primer dominio de multimerización y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor Fc (por ejemplo, un dominio/polipéptido Fc γ); un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular (que comprende al menos un primer dominio de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, que se une a un antígeno diana)), un segundo dominio de multimerización, opcionalmente un dominio bisagra, y un dominio transmembrana.

En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un primer dominio de multimerización y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor Fc (por ejemplo, un dominio/polipéptido Fc γ); un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular (que comprende al menos un primer dominio de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, que se une a un antígeno diana)), un segundo dominio de multimerización, una bisagra de CD4, y un dominio transmembrana CD4.

En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un primer dominio de multimerización y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor Fc (por ejemplo, un dominio/polipéptido Fcγ); un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular (que comprende al menos un primer dominio de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, que se une a un antígeno diana)), un segundo dominio de multimerización, una bisagra de CD4, un dominio transmembrana CD4, y un dominio CD4ic truncado.

En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un dominio de multimerización FRB o FKBP12 y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor Fc (por ejemplo, un dominio/polipéptido Fcγ); un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular que comprende un VHH o scFv que une un antígeno diana, un dominio de multimerización FRB o FKBP12, una bisagra de CD4, un dominio transmembrana CD4, y un dominio CD4ic truncado.

En modalidades particulares, un polipéptido de fusión comprende un componente de señalización que comprende un dominio de heterodimerización derivado de anticuerpo y un dominio accionador que forma un complejo con y recluta un complejo de receptor Fc (por ejemplo, un dominio/polipéptido Fcγ); un polipéptido de autoescisión viral 2A; y un componente de direccionamiento que comprende un dominio extracelular que comprende un VHH o scFv que une un antígeno diana, un dominio de heterodimerización derivado de anticuerpo, una bisagra de CD4, un dominio transmembrana CD4, un dominio CD4ic truncado, y opcionalmente, un dominio de señalización intracelular de receptor de citocina o coestimulador.

En modalidades particulares, los polipéptidos de fusión comprenden una secuencia de aminoácidos expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 139-170.

En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 151. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 151.

En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 137. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 137. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 137. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 137. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 137. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 137. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 137.

En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 138. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 138. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 96 % de identidad con la SEQ ID NO: 138. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una

secuencia que tiene al menos 97 % de identidad con la SEQ ID NO: 138. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO: 138. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia que tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO: 138. En una modalidad, el polipéptido de fusión comprende una secuencia expuesta como SEQ ID NO: 138.

F. POLINUCLEÓTIDOS

En modalidades particulares, polinucleótidos que codifican un sistema de receptor inmunitario modificado genéticamente, uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente, componentes de señalización, componentes de direccionamiento, receptores de linfocitos exógenos, TCR modificados genéticamente, CAR, CCR, BiTE, zetacinas, receptores de flip, factores coestimuladores exógenos, factores inmunomoduladores, agonista de factores coestimuladores, antagonista de factores inmunosupresores, acopladores de células inmunitarias, proteínas de fusión que comprenden los polipéptidos anteriores, y fragmentos de estos.

Como se usa en la presente, los términos "polinucleótido" o "ácido nucleico" se refieren al ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) e híbridos de ADN/ARN. Los polinucleótidos pueden ser monocatenarios o bicatenarios y recombinantes, sintéticos o aislados. Los polinucleótidos incluyen, pero no se limitan a: ARN premensajero (pre-ARNm), ARN mensajero (ARNm), ARN, ARN de interferencia corto (ARNic), ARN de horquilla corta (ARNhc), microARN (ARNmi), ribozimas, ARN genómico (ARNg), ARN de cadena mayor (ARN(+)), ARN de cadena menor (ARN(-)), ARNtracr, ARNcr, ARN de guía única (ARNgu), ARN sintético, ARNm sintético, ADN genómico (ADNg), ADN amplificado por PCR, ADN complementario (ADNc), ADN sintético, o ADN recombinante. Los polinucleótidos se refieren a una forma polimérica de nucleótidos de al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40, al menos 50, al menos 100, al menos 200, al menos 300, al menos 400, al menos 500, al menos 1000, al menos 5000, al menos 10,000, o al menos

15,000 o más nucleótidos de longitud, ya sean ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido, así como también todas las longitudes intermedias. Se entenderá fácilmente que "longitudes intermedias", en este contexto, significa cualquier longitud entre los valores citados, tales como 6, 7, 8, 9, etc., 101, 102, 103, etc.; 151,

5 152, 153, etc.; 201, 202, 203, etc. En modalidades particulares, los polinucleótidos o variantes tienen al menos o alrededor de 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de referencia.

10 Como se usa en la presente, "polinucleótido aislado" se refiere a un polinucleótido que se ha purificado de las secuencias que lo flanquean en un estado de origen natural, por ejemplo, un fragmento de ADN que se ha eliminado de las secuencias que son normalmente adyacentes al fragmento. En modalidades particulares, un "polinucleótido aislado" se refiere además a un ADN complementario (ADNc), un ADN recombinante, u otro polinucleótido que no
15 existe en la naturaleza y que se ha producido por la mano del hombre. En modalidades particulares, un polinucleótido aislado es un polinucleótido sintético, un polinucleótido semisintético, o un polinucleótido obtenido o derivado de una fuente recombinante.

En varias modalidades, un polinucleótido comprende un ARNm que codifica un polipéptido contemplado en la presente descripción. En ciertas modalidades, el ARNm
20 comprende una caperuza, uno o más nucleótidos y una cola poli(A).

En modalidades particulares, los polinucleótidos descritos en la presente descripción, que incluyen polinucleótidos que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente, pueden optimizarse con codones. Como se usa en la presente, el término "optimización de codones" se refiere a sustituir codones en un polinucleótido que
25 codifica un polipéptido para aumentar la expresión, estabilidad y/o actividad del polipéptido. Los factores que influyen en la optimización de codones incluyen, pero sin limitarse a, uno o más de:

(i) variación de los sesgos de codones entre dos o más organismos o genes o tablas de sesgo construidas sintéticamente, (ii) variación en el grado de sesgo de codones dentro de un organismo, gen, o conjunto de genes, (iii) variación sistemática de codones, incluido el contexto, (iv) variación de codones de acuerdo con sus ARNt decodificantes, (v) variación de codones de acuerdo con % de GC, en general o en una posición del triplete, (vi) variación en el grado de similitud con una secuencia de referencia, por ejemplo, una secuencia de origen natural, (vii) variación en el nivel de corte de frecuencia de codones, (viii) propiedades estructurales de los ARNm transcritos a partir de la secuencia de ADN, (ix) conocimiento previo sobre la función de las secuencias de ADN en las que se basa el diseño del conjunto de sustituciones de codones, (x) variación sistemática de conjuntos de codones para cada aminoácido y/o (xi) eliminación aislada de sitios de iniciación de la traducción falsa.

Como se usa en la presente, el término "nucleótido" se refiere a una base nitrogenada heterocíclica en enlace N-glucosídico con un azúcar fosforilado. Se entiende que los nucleótidos incluyen bases naturales, y una amplia variedad de bases modificadas reconocidas en la técnica. Tales bases se localizan generalmente en la posición 1' de un resto de azúcar de nucleótidos. Los nucleótidos generalmente comprenden una base, azúcar y un grupo fosfato. En el ácido ribonucleico (ARN), el azúcar es una ribosa, y en el ácido desoxirribonucleico (ADN) el azúcar es una desoxirribosa, *es decir*, un azúcar que carece de un grupo hidroxilo que está presente en la ribosa.

Los ejemplos ilustrativos de polinucleótidos incluyen, pero no se limitan a, polinucleótidos que codifican polipéptidos expuestos en las SEQ ID NO: 107-170.

En varias modalidades ilustrativas, los polinucleótidos contemplados en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, polinucleótidos que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente, receptores de antígenos modificados genéticamente, receptores de linfocitos exógenos, polipéptidos de fusión, y

vectores de expresión, vectores virales y plásmidos de transferencia que comprenden polinucleótidos contemplados en la presente descripción.

Como se usa en la presente, los términos "variante polinucleotídica" y "variante" y similares se refieren a polinucleótidos que muestran una identidad de secuencia sustancial con una secuencia polinucleotídica de referencia que se hibridan con una secuencia de referencia en condiciones rigurosas que se definen a continuación. Estos términos también abarcan polinucleótidos que se distinguen de un polinucleótido de referencia mediante la adición, eliminación, sustitución o modificación de al menos un nucleótido. En consecuencia, los términos "variante polinucleotídica" y "variante" incluyen polinucleótidos en los que uno o más nucleótidos se han añadido o eliminado, o modificado, o reemplazado con diferentes nucleótidos. Con respecto a esto, se entiende bien en la técnica que ciertas alteraciones que incluyen mutaciones, adiciones, eliminaciones y sustituciones pueden realizarse a un polinucleótido de referencia de manera que el polinucleótido alterado retiene la función o actividad biológica del polinucleótido de referencia.

Las citas "identidad de secuencia" o, por ejemplo, que comprende una "secuencia 50 % idéntica a", como se usa en la presente descripción, se refieren a la medida en que las secuencias son idénticas en una base de nucleótido por nucleótido o una base de aminoácido por aminoácido sobre una ventana de comparación. Por lo tanto, un "porcentaje de identidad de secuencia" puede calcularse comparando dos secuencias alineadas óptimamente sobre la ventana de comparación, determinando el número de posiciones en las que la base de ácido nucleico idéntico (por ejemplo, A, T, C, G, I) o el residuo de aminoácido idéntico (por ejemplo, Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gln, Cys y Met) se produce en ambas secuencias para producir el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación (es decir, el tamaño de la ventana) y multiplicando el resultado por 100 para producir el porcentaje de identidad de secuencia. Se incluyen nucleótidos y polipéptidos que

tienen al menos aproximadamente 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 66 %, 67 %, 68 %, 69 %, 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 86 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias de referencia descritas en la presente descripción.

El término "casete de ácido nucleico" o "casete de expresión" como se usa en la presente se refiere a secuencias genéticas dentro del vector que pueden expresar un ARN, y subsecuentemente un polipéptido. En una modalidad, el casete de ácido nucleico contiene un(os) gen(es) de interés, *por ejemplo*, un(os) polinucleótido(s) de interés. En otra modalidad, el casete de ácido nucleico contiene una o más secuencias de control de la expresión, por ejemplo, un promotor, potenciador, secuencia poli(A), y uno o más genes de interés, por ejemplo, uno o más polinucleótidos de interés. Los vectores pueden comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más casetes de ácido nucleico. El casete de ácido nucleico se orienta posicional y secuencialmente dentro del vector de manera que el ácido nucleico en el casete puede transcribirse en ARN, y cuando sea necesario, traducirse en una proteína o un polipéptido, someterse a modificaciones postraduccionales apropiadas requeridas para la actividad en la célula transformada, y translocarse al compartimento apropiado para la actividad biológica al dirigirse a compartimentos intracelulares apropiados o secretarse en compartimentos extracelulares. Preferentemente, el casete tiene sus extremos 3' y 5' adaptados para la inserción lista en un vector, por ejemplo, tiene sitios de endonucleasa de restricción en cada extremo. El casete puede retirarse e insertarse en un plásmido o vector viral como una única unidad.

Los polinucleótidos incluyen uno o más polinucleótidos de interés. Como se usa en la presente, el término "polinucleótido de interés" se refiere a un polinucleótido que codifica un polipéptido o polipéptido de fusión o un polinucleótido que sirve como plantilla para la transcripción de un polinucleótido inhibidor, como se contempla en la presente descripción.

Los polinucleótidos contemplados en la presente descripción, independientemente de la longitud de la secuencia codificante en sí, pueden combinarse con otras secuencias de ADN, tal como promotores y/o potenciadores, regiones no traducidas (UTR), secuencias de señal, secuencias Kozak, señales de poliadenilación, sitios adicionales de enzimas de restricción, múltiples sitios de clonación, sitios internos de entrada al ribosoma (IRES), sitios de reconocimiento de recombinasa (por ejemplo, sitios LoxP, FRT y Att), codones de terminación, señales de terminación transcripcional, y polinucleótidos que codifican polipéptidos de autoescisión, etiquetas de epítipo, como se describe en otra parte de la presente descripción o como se conoce en la técnica, de manera que su longitud total puede variar considerablemente.

5

10

Por lo tanto, se contempla que puede emplearse un fragmento de polinucleótido de casi cualquier longitud, con la longitud total preferentemente limitada por la facilidad de preparación y uso en el protocolo de ADN recombinante previsto.

Los polinucleótidos pueden prepararse, manipularse, expresarse y/o suministrarse mediante el uso de cualquiera de una variedad de técnicas bien establecidas conocidas y disponibles en la técnica. Para expresar un polipéptido deseado, puede insertarse una secuencia de nucleótidos que codifica al polipéptido en un vector apropiado.

15

Los ejemplos ilustrativos de vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmido, secuencias de replicación autónoma y elementos transponibles, por ejemplo, Sleeping Beauty, PiggyBac.

20

Los ejemplos ilustrativos adicionales de vectores incluyen, sin limitación, plásmidos, fagémidos, cósmidos, cromosomas artificiales tales como cromosoma artificial de levadura (YAC), cromosoma artificial bacteriano (BAC), o cromosoma artificial derivado de P1 (PAC), bacteriófagos tales como fago lambda o fago M13, y virus animales.

Los ejemplos ilustrativos de virus útiles como vectores incluyen, sin limitación, retrovirus (que incluye lentivirus), adenovirus, virus adenoasociado, herpesvirus (por ejemplo, virus del herpes simple), poxvirus, baculovirus, papilomavirus y papovavirus (por ejemplo, SV40).

25

Los ejemplos ilustrativos de vectores de expresión incluyen, pero no se limitan a, vectores pCIneo (Promega) para la expresión en células de mamíferos; pLenti4/V5-DEST™, pLenti6/V5-DEST™, y pLenti6.2/V5-GW/lacZ (Invitrogen) para la transferencia génica mediada por lentivirus y expresión en células de mamíferos. En modalidades particulares, las secuencias
5 codificantes de polipéptidos descritos en la presente descripción pueden ligarse a tales vectores de expresión para la expresión de los polipéptidos en células de mamíferos.

En modalidades particulares, el vector es un vector episomal o un vector que se mantiene extracromosómicamente. Como se usa en la presente, el término "episomal" se refiere a un vector que es capaz de replicarse sin integración en el ADN cromosómico del
10 huésped y sin pérdida gradual de una célula huésped que se divide, lo que significa además que dicho vector se replica extracromosómica o episomalmente.

"Secuencias de control de la expresión", "elementos de control" o "secuencias reguladoras" presentes en un vector de expresión son aquellas regiones no traducidas del vector que incluyen un origen de replicación, casetes de selección, promotores, potenciadores,
15 señales de inicio de la traducción (secuencia de Shine Dalgarno o secuencia Kozak), intrones, una secuencia de poliadenilación, regiones 5' y 3' no traducidas, que interactúan con proteínas celulares huésped para llevar a cabo la transcripción y traducción. Tales elementos pueden variar en su resistencia y especificidad. En dependencia del sistema vectorial y del huésped utilizado, puede usarse cualquier número de elementos de transcripción y traducción
20 adecuados, que incluyen promotores ubicuos y promotores inducibles.

En modalidades particulares, un polinucleótido comprende un vector, que incluye pero no se limita a vectores de expresión y vectores virales. Un vector puede comprender una o más secuencias de control exógenas, endógenas o heterólogas tales como promotores y/o potenciadores. Una "secuencia de control endógena" es una que se une naturalmente con un
25 gen dado en el genoma. Una "secuencia de control exógena" es una que se coloca en yuxtaposición a un gen por medio de manipulación genética (es decir, técnicas biológicas

moleculares) de manera que la transcripción de ese gen es dirigida por el potenciador/promotor unido. Una "secuencia de control heteróloga" es una secuencia exógena que es de una especie diferente a la célula que se manipula genéticamente. Una secuencia de control "sintética" puede comprender elementos de una o más secuencias endógenas y/o exógenas, y/o secuencias determinadas *in vitro* o *in silico* que proporcionan una actividad óptima del promotor y/o potenciador para la terapia particular.

El término "promotor", como se usa en la presente, se refiere a un sitio de reconocimiento de un polinucleótido (ADN o ARN) al cual se une una ARN polimerasa. Una ARN polimerasa inicia y transcribe polinucleótidos unidos operativamente al promotor. En modalidades particulares, los promotores que operan en células de mamíferos comprenden una región rica en AT ubicada aproximadamente 25 a 30 bases aguas arriba del sitio donde se inicia la transcripción y/u otra secuencia encontrada 70 a 80 bases aguas arriba desde el inicio de la transcripción, una región CNCAAT donde N puede ser cualquier nucleótido.

El término "potenciador" se refiere a un segmento de ADN que contiene secuencias capaces de proporcionar una transcripción mejorada y en algunos casos puede funcionar independientemente de su orientación con relación a otra secuencia de control. Un potenciador puede funcionar de manera cooperativa o aditiva con promotores y/u otros elementos potenciadores. El término "promotor/potenciador" se refiere a un segmento de ADN que contiene secuencias capaces de proporcionar funciones promotoras y potenciadoras.

El término "unido operativamente", se refiere a una yuxtaposición en donde los componentes descritos están en una relación que les permite funcionar de la manera prevista. En una modalidad, el término se refiere a un enlace funcional entre una secuencia de control de la expresión de ácido nucleico (tal como un promotor, y/o potenciador) y una segunda secuencia de polinucleótidos, por ejemplo, un polinucleótido de interés, en donde la secuencia de control de la expresión dirige la transcripción del ácido nucleico correspondiente a la segunda secuencia.

Como se usa en la presente, el término "secuencia de control de la expresión constitutiva" se refiere a un promotor, potenciador o promotor/potenciador que permite continua o continuamente la transcripción de una secuencia unida operativamente. Una secuencia de control de la expresión constitutiva puede ser un promotor, potenciador o promotor/potenciador "ubícuo" que permite la expresión en una amplia variedad de tipos de células y tejidos o un promotor, potenciador o promotor/potenciador "específico de células", "específico de tipo de células", "específico de linaje celular" o "específico de tejidos" que permite la expresión en una variedad restringida de tipos de células y tejidos, respectivamente.

Las secuencias de control de la expresión ubícuas ilustrativas adecuadas para su uso en modalidades particulares incluyen, pero no se limitan a, un promotor temprano inmediato del citomegalovirus (CMV), un virus de simio viral 40 (SV40) (por ejemplo, temprano o tardío), un promotor de LTR del virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV), una LTR del virus del sarcoma de Rous (RSV), un promotor del virus del herpes simple (VHS) (timidina cinasa), promotores H5, P7.5, y P11 del virus vaccinia, un promotor del factor de alargamiento 1-alfa (EF1a), respuesta de crecimiento temprano 1 (EGR1), ferritina H (FerH), ferritina L (FerL), gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), factor de iniciación de la traducción eucariota 4A1 (EIF4A1), proteína 5 de choque térmico de 70 kDa (HSPA5), proteína de choque térmico beta 90 kDa, miembro 1 (HSP90B1), proteína de choque térmico de 70 kDa (HSP70), β -cinesina (β -KIN), el locus ROSA 26 humano (Irions *et al.*, *Nature Biotechnology* 25, 1477 - 1482 (2007)), un promotor de Ubiquitina C (UBC), un promotor de fosfoglicerato cinasa-1 (PGK), un promotor de potenciador de citomegalovirus/ β -actina de pollo (CAG), un promotor de la β -actina y un potenciador del virus del sarcoma mieloproliferativo, región de control negativo eliminada, promotor U3 sustituido por sitio de unión al cebador (MND) dl587rev (Haas *et al. Journal of Virology*. 2003;77(17): 9439-9450).

En una modalidad, un vector comprende un promotor de MNDU3.

En una modalidad, un vector comprende un promotor de EF1a que comprende el primer intrón del gen de EF1a humano.

En una modalidad, un vector comprende un promotor de EF1a que carece del primer intrón del gen de EF1a humano.

5 En una modalidad particular, puede ser conveniente usar una secuencia de control de expresión específica de célula, tipo de célula, linaje celular o tejido para lograr la expresión específica de tipo celular, específica de linaje o específica de tejido de una secuencia de polinucleótido deseada (por ejemplo, para expresar un ácido nucleico particular que codifica un polipéptido en solo un subconjunto de tipos celulares, linajes celulares o tejidos o durante
10 etapas específicas de desarrollo).

En una modalidad particular, puede ser deseable expresar un polinucleótido un promotor específico de células T.

Como se usa en la presente, "expresión condicional" puede referirse a cualquier tipo de expresión condicional que incluye, pero sin limitarse a, expresión inducible; expresión
15 reprimible; expresión en células o tejidos que tienen un estado fisiológico, biológico o de enfermedad particular, etc. Esta definición no pretende excluir la expresión específica de tipo celular o tejido. Ciertas modalidades proporcionan la expresión condicional de un polinucleótido de interés, *por ejemplo*, la expresión se controla al someter una célula, tejido, organismo, *etc.*, a un tratamiento o afección que provoca que se exprese el polinucleótido o que provoca un
20 aumento o disminución en la expresión del polinucleótido codificado por el polinucleótido de interés.

Los ejemplos ilustrativos de promotores/sistemas inducibles incluyen, pero sin limitarse a, promotores inducibles por esteroides tales como promotores para genes que codifican receptores de glucocorticoides o estrógenos (inducibles mediante el tratamiento con la hormona
25 correspondiente), promotor de metalotionina (inducible mediante tratamiento con varios metales pesados), promotor de MX-1 (inducible por interferón), el sistema regulador de mifepristone

"GeneSwitch" (Sirin y otros, 2003, *Gene*, 323:67), el intercambio génico inducible por cumato (WO 2002/088346), sistemas reguladores dependientes de tetraciclina, etc. Los agentes inductores incluyen, pero sin limitarse a glucocorticoides, estrógenos, mifepristone (RU486), metales, interferones, moléculas pequeñas, cumato, tetraciclina, doxiciclina, y variantes de los mismos.

Como se usa en la presente, un "sitio de entrada al ribosoma interno" o "IRES" se refiere a un elemento que promueve la entrada directa al ribosoma interno al codón de iniciación, tal como ATG, de un cistron (una región codificante de proteína), lo que conduce de esta manera la traducción independiente de caperuza del gen. Ver, por ejemplo, Jackson y otros, 1990. *Trends Biochem Sci* 15(12):477-83) y Jackson y Kaminski. 1995. *RNA* 1(10):985-1000. Los ejemplos de IRES generalmente empleados por los expertos en la técnica incluyen los descritos en la patente de Estados Unidos núm. 6,692,736. Otros ejemplos de "IRES" conocidos en la técnica incluyen, pero no se limitan a, IRES que puede obtenerse de picornavirus (Jackson et al., 1990) e IRES que puede obtenerse de fuentes de ARNm virales o celulares, tales como por ejemplo, proteína de unión de cadena pesada de inmunoglobulina (BiP), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Huez et al. 1998. *Mol. Cell. Biol.* 18(11):6178-6190), el factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF-2), y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGFII), el factor de iniciación de la traducción eIF4G y los factores de transcripción de levadura TFIID y HAP4, el virus de la encefalomiocarditis (EMCV) que está disponible comercialmente en Novagen (Duke et al., 1992. *J. Virol* 66(3):1602-9) y el IRES de VEGF (Huez et al., 1998. *Mol Cell Biol* 18(11):6178-90). También se ha reportado IRES en genomas virales de especies de Picornaviridae, Dicistroviridae y Flaviviridae y en HCV, virus de la leucemia murina amistosa (FrMLV) y virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV).

En una modalidad, el IRES usado en los polinucleótidos contemplados en la presente descripción es un IRES de EMCV.

En modalidades particulares, los polinucleótidos son una secuencia Kozak de consenso. Como se usa en la presente, el término "secuencia de Kozak" se refiere a una secuencia de nucleótidos corta que facilita en gran medida la unión inicial del ARNm a la subunidad pequeña del ribosoma y aumenta la traducción. La secuencia Kozak de consenso es (GCC)RCCATGG (SEQ ID NO: 198), donde R es una purina (A o G) (Kozak, 1986. *Cell*. 44(2):283-92, y Kozak, 1987. *Nucleic Acids Res.* 15(20):8125-48).

Los elementos que dirigen la terminación y poliadenilación eficientes de los transcritos de ácidos nucleicos heterólogos aumentan la expresión génica heteróloga. Las señales de terminación de la transcripción se encuentran generalmente aguas abajo de la señal de poliadenilación. En modalidades particulares, los vectores comprenden una secuencia de poliadenilación 3' de un polinucleótido que codifica un polipéptido a expresar. El término "sitio poliA" o "secuencia poliA" como se usa en la presente descripción indica una secuencia de ADN que dirige tanto la terminación como la poliadenilación del transcrito de ARN naciente por la ARN polimerasa II. Las secuencias de poliadenilación pueden promover la estabilidad del ARNm mediante la adición de una cola de poliA al extremo 3' de la secuencia codificante y, por lo tanto, contribuir a una mayor eficiencia de traducción. La escisión y la poliadenilación se dirigen mediante una secuencia poli(A) en el ARN. La secuencia poli(A) de núcleo para pre-ARNm de mamíferos tiene dos elementos de reconocimiento que flanquean un sitio de escisión-poliadenilación. Típicamente, un hexámero AAUAAA casi invariante se encuentra en 20-50 nucleótidos corriente arriba de un elemento más variable rico en residuos U o GU. La escisión del transcrito naciente se produce entre estos dos elementos y se acopla a la adición de hasta 250 adenosinas al producto de escisión 5'. En modalidades particulares, la secuencia poli(A) de núcleo es una secuencia poliA ideal (*por ejemplo*, AATAAA, ATTAAA, AGTAAA). En modalidades particulares, la secuencia poli(A) es una secuencia poliA de SV40, una secuencia poliA de hormona del crecimiento bovina (BGHpA), una secuencia poliA de β -globina de conejo

(rβgpA), variantes de estas, u otra secuencia poliA endógena o heteróloga adecuada conocida en la técnica. En modalidades particulares, la secuencia poli(A) es sintética.

En modalidades particulares, los polinucleótidos que codifican uno o más polipéptidos, o polipéptidos de fusión pueden introducirse en células efectoras inmunitarias, por ejemplo, células T, mediante métodos no virales y virales. En modalidades particulares, el suministro de uno o más polinucleótidos puede proporcionarse por el mismo método o por diferentes métodos, y/o por el mismo vector o por diferentes vectores.

El término "vector" se usa en la presente descripción para referirse a una molécula de ácido nucleico capaz de transferir o transportar otra molécula de ácido nucleico. El ácido nucleico transferido se une generalmente a, por ejemplo, se inserta en la molécula de ácido nucleico vectorial. Un vector puede incluir secuencias que dirigen la replicación autónoma en una célula, o puede incluir secuencias suficientes para permitir la integración en el ADN de la célula huésped. En modalidades particulares, los vectores no virales se usan para suministrar uno o más polinucleótidos contemplados en la presente descripción a una célula T.

Los ejemplos ilustrativos de vectores no virales incluyen, pero no se limitan a plásmidos (por ejemplo, plásmidos de ADN o plásmidos de ARN), transposones, cósmidos y cromosomas artificiales bacterianos.

Los métodos ilustrativos de suministro no viral de polinucleótidos contemplados en modalidades particulares incluyen, pero no se limitan a: electroporación, sonoporación, lipofección, microinyección, biolística, virosomas, liposomas, inmunoliposomas, nanopartículas, conjugados de polimerización o lípido:ácido nucleico, ADN desnudo, viriones artificiales, transferencia mediada por DEAE-dextrano, pistola génica, y choque térmico.

Los ejemplos ilustrativos de sistemas de suministro de polinucleótidos adecuados para su uso en modalidades particulares contempladas en modalidades particulares incluyen, pero no se limitan a, los proporcionados por Amaxa Biosystems, Maxcyte, Inc., BTX Molecular Delivery Systems, y Copernicus Therapeutics Inc. Los reactivos de lipofección se venden

comercialmente (por ejemplo, Transfectam™ y Lipofectin™). Los lípidos catiónicos y neutros que son adecuados para la lipofección eficiente de reconocimiento de receptores de polinucleótidos se han descrito en la bibliografía. Ver, por ejemplo, Liu *et al.* (2003) *Gene Therapy*. 10:180–187; y Balazs *et al.* (2011) *Journal of Drug Delivery*. 2011:1-12. El suministro dirigido a anticuerpos, derivado de bacterias, basado en nanocélulas no vivas también se contempla en modalidades particulares.

Como será evidente para un experto en la técnica, el término “vector viral” se usa ampliamente para referirse ya sea a una molécula de ácido nucleico (*por ejemplo*, un plásmido de transferencia) que incluye elementos de ácido nucleico derivados del virus que típicamente facilitan la transferencia de la molécula de ácido nucleico o la integración en el genoma de una célula o a una partícula viral que media la transferencia de ácido nucleico. Las partículas virales incluirán típicamente varios componentes virales y a veces también componentes de células huésped además de ácido(s) nucleico. El término “vector viral” o “vector lentiviral” puede referirse ya sea a un virus o partícula viral capaz de transferir un ácido nucleico a una célula o al propio ácido nucleico transferido. Los vectores virales y los plásmidos de transferencia contienen elementos genéticos estructurales y/o funcionales que se derivan principalmente de un virus.

Los vectores virales que comprenden polinucleótidos contemplados en modalidades particulares pueden suministrarse in vivo mediante la administración a un paciente individual, típicamente mediante administración sistémica (por ejemplo, infusión intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subdérmica o intracraneal) o aplicación tópica, como se describe a continuación. Alternativamente, los vectores pueden suministrarse a células *ex vivo*, tales como células explantadas de un paciente individual (por ejemplo, sangre periférica movilizada, linfocitos, aspirados de médula ósea, biopsia de tejido, *etc.*) o células madre hematopoyéticas universales del donante, seguido de la reimplantación de las células en un paciente.

En una modalidad, los vectores virales que comprenden polinucleótidos contemplados en la presente descripción se administran directamente a un organismo o sujeto para la transducción de células *in vivo*. Alternativamente, puede administrarse ADN desnudo. La administración se realiza por cualquiera de las vías normalmente usadas para introducir una molécula en contacto final con células sanguíneas o tisulares que incluyen, pero sin limitarse a, inyección, infusión, aplicación tópica y electroporación. Los métodos adecuados para administrar tales ácidos nucleicos están disponibles y son bien conocidos por los expertos en la técnica, y, aunque puede usarse más de una ruta para administrar una composición particular, una ruta particular frecuentemente puede proporcionar una reacción más inmediata y más efectiva que otra ruta.

Los ejemplos ilustrativos de sistemas de vectores virales adecuados para su uso en modalidades particulares contempladas en modalidades particulares incluyen, pero no se limitan a, virus adenoasociado (AAV), retrovirus, virus del herpes simple, adenovirus, y vectores del virus vaccinia.

En varias modalidades, uno o más polinucleótidos que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y/u otros polipéptidos contemplados en la presente descripción se introducen en una célula efectora inmunitaria, por ejemplo, células T, al transducir la célula con un virus adenoasociado recombinante (rAAV), que comprende el uno o más polinucleótidos.

El AAV es un virus pequeño (~26 nm) no envuelto, principalmente episomal, con replicación defectuosa. El AAV puede infectar células divisorias y no divisorias y puede incorporar su genoma en el de la célula huésped. El AAV recombinante (rAAV) se compone típicamente de, como mínimo, un transgén y sus secuencias reguladoras, y repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV 5' y 3'. Las secuencias de ITR tienen alrededor de 145 pb de longitud. En modalidades particulares, el rAAV comprende ITR y secuencias de cápside aisladas de AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 o AAV10.

En algunas modalidades, se usa un rAAV quimérico, las secuencias de ITR se aíslan de un serotipo AAV y las secuencias de la cápside se aíslan de un serotipo AAV diferente. Por ejemplo, un rAAV con secuencias de ITR derivadas de AAV2 y secuencias de cápside derivadas de AAV6 se denomina AAV2/AAV6. En modalidades particulares, el vector de rAAV puede comprender ITR de AAV2 y proteínas de la cápside de cualquiera de AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 o AAV10. En una modalidad preferida, el rAAV comprende secuencias de ITR derivadas de AAV2 y secuencias de cápside derivadas de AAV6. En una modalidad preferida, el rAAV comprende secuencias de ITR derivadas de AAV2 y secuencias de cápside derivadas de AAV2.

En algunas modalidades, pueden aplicarse métodos de ingeniería genética y selección a las cápsides de AAV para aumentar la probabilidad de que transduzcan células de interés.

La construcción de vectores de rAAV, su producción y purificación se han divulgado, por ejemplo, en las patentes estadounidenses núm. 9,169,494; 9,169,492; 9,012,224; 8,889,641; 8,809,058; y 8,784,799, cada una de las cuales se incorpora por referencia en la presente descripción en su totalidad.

En varias modalidades, uno o más polinucleótidos que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y/u otros polipéptidos contemplados en la presente descripción se introducen en una célula efectora inmunitaria, por ejemplo, células T, al transducir la célula con un retrovirus, p. ej., lentivirus, que comprende el uno o más polinucleótidos.

Como se usa en la presente, el término "retrovirus" se refiere a un virus de ARN que transcribe inversamente su ARN genómico en una copia lineal de ADN bicatenario y posteriormente integra covalentemente su ADN genómico en un genoma huésped. Los retrovirus ilustrativos adecuados para su uso en modalidades particulares incluyen, pero sin limitarse a: virus de la leucemia murina de Moloney (M-MuLV), virus del sarcoma murino de Moloney (MoMSV), virus del sarcoma murino de Harvey (HaMuSV), virus del tumor mamífero

murino (MuMTV), virus de la leucemia del simio gibón (GaLV), virus de la leucemia felina (FLV), spumavirus, virus de la leucemia murina de Friend, virus de las células madre murinas (MSCV) y virus del sarcoma de Rous (RSV)) y lentivirus.

Como se usa en la presente, el término "lentivirus" se refiere a un grupo (o género) de retrovirus complejos. Los lentivirus ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, VIH (virus de la inmunodeficiencia humana; incluidos VIH tipo 1 y VIH tipo 2); virus de la visna-maedi (VMV); virus de la artritis-encefalitis caprina (CAEV); virus de la anemia infecciosa equina (EIAV); virus de la inmunodeficiencia felina (FIV); virus de la inmunodeficiencia bovina (BIV); y virus de la inmunodeficiencia de simio (SIV). En una modalidad, se prefieren las cadenas principales de vectores basados en HIV (es decir, elementos de secuencia de acción cis del HIV).

En varias modalidades, un vector lentiviral contemplado en la presente descripción comprende uno o más LTR, y uno o más, o todos, de los siguientes elementos accesorios: una cPPT/FLAP, una señal de empaque Psi (Ψ), un elemento de exportación, secuencias poli (A), y puede comprender opcionalmente un WPRE o HPRE, un elemento aislante, un marcador de selección, y un gen de suicidio celular, como se describe en otra parte de la presente descripción.

En modalidades particulares, los vectores lentivirales contemplados en la presente descripción pueden ser lentivirus de integración o no integración o con integración defectuosa. Como se usa en la presente, el término "lentivirus con integración defectuosa" o "IDLV" se refiere a un lentivirus que tiene una integrasa que carece de la capacidad de integrar el genoma viral en el genoma de las células huésped. Los vectores virales incompetentes en la integración se han descrito en la solicitud de patente WO 2006/010834, que se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad.

Las mutaciones ilustrativas en el gen de pol de HIV-1 adecuadas para reducir la actividad de la integrasa incluyen, pero sin limitarse a: H12N, H12C, H16C, H16V, S81 R, D41A,

K42A, H51A, Q53C, D55V, D64E, D64V, E69A, K71A, E85A, E87A, D116N, D116I, D116A, N120G, N120I, N120E, E152G, E152A, D35E, K156E, K156A, E157A, K159E, K159A, K160A, R166A, D167A, E170A, H171A, K173A, K186Q, K186T, K188T, E198A, R199c, R199T, R199A, D202A, K211A, Q214L, Q216L, Q221 L, W235F, W235E, K236S, K236A, K246A, G247W, D253A, R262A, R263A y K264H.

El término "repetición terminal larga (LTR)" se refiere a dominios de pares de bases ubicados en los extremos de ADN retrovirales que, en su contexto de secuencia natural, son repeticiones directas y contienen regiones U3, R y U5.

Como se usa en la presente, el término "elemento FLAP" o "cPPT/FLAP" se refiere a un ácido nucleico cuya secuencia incluye el tracto de polipurina central y secuencias de terminación central (cPPT y CTS) de un retrovirus, por ejemplo, HIV-1 o HIV-2. Los elementos FLAP adecuados se describen en la patente de Estados Unidos núm. 6,682,907 y en Zennou, y otros, 2000, Cell, 101:173.

Como se usa en la presente, el término "señal de empaquetamiento" o "secuencia de empaquetamiento" se refiere a secuencias psi [Ψ] ubicadas dentro del genoma retroviral que se requieren para la inserción del ARN viral en la cápside o partícula viral, ver por ejemplo, Clever *et al.*, 1995. *J. of Virology*, Vol. 69, núm. 4; pp. 2101–2109.

La expresión "elemento de exportación" se refiere a un elemento regulador postranscripcional de acción cis que regula el transporte de un transcrito de ARN desde el núcleo hasta el citoplasma de una célula. Los ejemplos de elementos de exportación de ARN incluyen, pero sin limitarse a, el elemento de respuesta rev (RRE) del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (ver, por ejemplo, Cullen y otros, 1991. *J. Virol.* 65: 1053; y Cullen y otros, 1991. *Cell* 58: 423) y el elemento regulador postranscripcional (HPRE) del virus de la hepatitis B.

En modalidades particulares, la expresión de secuencias heterólogas en vectores virales aumenta al incorporar elementos reguladores postranscripcionales, sitios de poliadenilación

eficientes y, opcionalmente, señales de terminación de la transcripción en los vectores. Una variedad de elementos reguladores postranscripcionales puede aumentar la expresión de un ácido nucleico heterólogo en la proteína, por ejemplo, un elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis de la marmota (WPRE; Zufferey y otros, 1999, J. Virol., 73:2886); el
5 elemento regulador postranscripcional presente en el virus de la hepatitis B (HPRE) (Huang y otros, Mol. Cell. Biol., 5:3864); y similares (Liu y otros, 1995, Genes Dev., 9:1766).

Los vectores lentivirales contienen preferentemente varias mejoras de seguridad como resultado de modificar las LTR. Los vectores "de autoinactivación" (SIN) se refieren a vectores con replicación defectuosa, por ejemplo, vectores retrovirales o lentivirales, en los que la región
10 derecha (3') potenciadora-promotora de LTR, conocida como la región U3, se ha modificado (por ejemplo, por eliminación o sustitución) para evitar la transcripción viral más allá de la primera ronda de replicación viral. La autoinactivación se logra preferentemente mediante la introducción de una eliminación en la región U3 de la 3' LTR del ADN vectorial, es decir, el ADN usado para producir el ARN vectorial. Por lo tanto, durante la transcripción inversa, esta
15 eliminación se transfiere a la 5' LTR del ADN proviral. En modalidades particulares, es conveniente eliminar suficiente cantidad de la secuencia U3 para disminuir o anular en gran medida la actividad transcripcional de la LTR, disminuyendo o anulando de esta manera en gran medida la producción de ARN vectorial de longitud completa en células transducidas. En el caso de lentivectores basados en VIH, se ha descubierto que tales vectores toleran eliminaciones
20 significativas de U3, incluida la eliminación de la caja TATA de LTR (por ejemplo, eliminaciones de -418 a -18), sin reducciones significativas en los títulos de vectores.

Se proporciona una mejora de seguridad adicional reemplazando la región U3 de la 5' LTR con un promotor heterólogo para impulsar la transcripción del genoma viral durante la producción de partículas virales. Los ejemplos de promotores heterólogos que pueden usarse
25 incluyen, por ejemplo, promotores del virus de simio viral 40 (SV40) (por ejemplo, temprano o tardío), citomegalovirus (CMV) (por ejemplo, inmediato temprano), virus de la leucemia murina

de Moloney (MoMLV), virus del sarcoma de Rous (RSV) y virus del herpes simple (HSV) (timidina cinasa).

Los términos "pseudotipo" o "pseudotipado" como se usan en la presente, se refieren a un virus cuyas proteínas de la envoltura viral se han sustituido con las de otro virus que posee características preferibles. Por ejemplo, el VIH puede pseudotiparse con proteínas de la envoltura de la proteína G del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), lo que permite que el VIH infecte un intervalo más amplio de células porque las proteínas de la envoltura del VIH (codificadas por el gen de env) normalmente se dirigen al virus a las células presentadoras de CD4⁺.

En ciertas modalidades, los vectores lentivirales se producen de acuerdo con métodos conocidos. Ver, por ejemplo, Kutner *et al.*, *BMC Biotechnol.* 2009;9:10. doi: 10.1186/1472-6750-9-10; Kutner *et al. Nat. Protoc.* 2009;4(4):495–505. doi: 10.1038/nprot.2009.22.

De acuerdo con ciertas modalidades específicas contempladas en la presente descripción, la mayoría o todas las secuencias de la cadena principal del vector viral se derivan de un lentivirus, por ejemplo, VIH-1. Sin embargo, debe entenderse que pueden usarse muchas fuentes diferentes de secuencias retrovirales y/o lentivirales, o combinarse y numerosas sustituciones y alteraciones en ciertas de las secuencias lentivirales pueden acomodarse sin afectar la capacidad de un vector de transferencia para realizar las funciones descritas en la presente descripción. Además, una variedad de vectores lentivirales se conocen en la técnica, ver Naldini y otros, (1996a, 1996b y 1998); Zufferey y otros, (1997); Dull y otros, 1998, patente de Estados Unidos núms. 6,013,516; y 5,994,136, muchos de los cuales pueden adaptarse para producir un vector viral o plásmido de transferencia contemplado en la presente descripción.

En varias modalidades, uno o más polinucleótidos que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y/u otros polipéptidos

contemplados en la presente descripción se introducen en una célula efectora inmunitaria, al transducir la célula con un adenovirus que comprende el uno o más polinucleótidos.

Los vectores basados en adenovirales son capaces de lograr una eficiencia de transducción muy alta en muchos tipos celulares y no requieren división celular. Con tales
5 vectores, se han obtenido altos títulos y altos niveles de expresión. Este vector puede producirse en grandes cantidades en un sistema relativamente simple. La mayoría de los vectores de adenovirus están modificados genéticamente de manera que un transgén reemplaza los genes de Ad E1a, E1b y/o E3; subsecuentemente, el vector con deficiencia de la replicación se propaga en las células humanas 293 que suministran la función génica
10 eliminada en los trans. Los vectores Ad pueden transducir múltiples tipos de tejidos *in vivo*, que incluyen células diferenciadas sin división tales como las que se encuentran en hígado, riñón y músculo. Los vectores Ad convencionales tienen una gran capacidad de transporte.

La generación y propagación de los vectores de adenovirus actuales, que tienen deficiencia en la replicación, puede utilizar una línea celular cooperadora única, designada
15 293, que se transformó a partir de células renales embrionarias humanas mediante fragmentos de ADN de Ad5 y expresa constitutivamente proteínas E1 (Graham *et al.*, 1977). Dado que la región E3 es dispensable del genoma del adenovirus (Jones & Shenk, 1978), los vectores de adenovirus actuales, con la ayuda de células 293, portan ADN extraño ya sea en E1, D3 o ambas regiones (Graham & Prevec, 1991). Los vectores de adenovirus se han
20 usado en la expresión génica eucariota (Levrero y otros, 1991; Gomez-Foix y otros, 1992) y el desarrollo de vacunas (Grunhaus & Horwitz, 1992; Graham & Prevec, 1992). Los estudios en la administración de adenovirus recombinante a diferentes tejidos incluyen instilación de tráquea (Rosenfeld *et al.*, 1991; Rosenfeld *et al.*, 1992), inyección muscular (Ragot *et al.*, 1993), inyecciones intravenosas periféricas (Herz & Gerard, 1993) e inoculación
25 estereotáctica en el cerebro (Le Gal La Salle *et al.*, 1993). Un ejemplo del uso de un vector Ad

en un ensayo clínico implicó la terapia con polinucleótidos para la inmunización antitumoral con inyección intramuscular (Stermán *et al.*, *Hum. Gene Ther.* 7:1083-9 (1998)).

En varias modalidades, uno o más polinucleótidos que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y/u otros polipéptidos contemplados en la presente descripción se introducen en una célula efectora inmunitaria, al transducir la célula con un virus del herpes simple, p. ej., HSV-1, HSV-2, que comprende el uno o más polinucleótidos.

El virión maduro de VHS consiste en una cápsula icosaédrica envuelta con un genoma viral que consiste en una molécula de ADN lineal bicatenario que es de 152 kb. En una modalidad, el vector viral basado en HSV es deficiente en uno o más genes de HSV esenciales o no esenciales. En una modalidad, el vector viral basado en HSV tiene deficiencia en la replicación. La mayoría de los vectores de HSV con deficiencia en la replicación contienen una eliminación para eliminar uno o más genes de HSV intermedios-tempranos, tempranos o tardíos para evitar la replicación. Por ejemplo, el vector de HSV puede ser deficiente en un gen temprano inmediato seleccionado del grupo que consiste en: ICP4, ICP22, ICP27, ICP47 y sus combinaciones. Las ventajas del vector de HSV son su capacidad para entrar en una etapa latente que puede dar como resultado la expresión de ADN a largo plazo y su gran genoma de ADN viral que puede acomodar insertos de ADN exógenos de hasta 25 kb. Los vectores basados en HSV se describen en, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núms. 5,837,532, 5,846,782 y 5,804,413, y las Solicitudes de Patente Internacional WO 91/02788, WO 96/04394, WO 98/15637 y WO 99/06583, cada uno de los cuales se incorpora por referencia en la presente descripción en su totalidad.

G. CÉLULAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE

En varias modalidades, las células se modifican para expresar un sistema de receptor inmunitario modificado genéticamente, uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente, componentes de señalización, componentes de direccionamiento,

TCR modificados genéticamente, CAR, CCR, BiTE, zetacinas, receptores de flip, factor coestimulador exógeno, factor inmunomodulador, agonista de un factor coestimulador, antagonista de un factor inmunosupresor, acoplador de células inmunitarias, y/o proteínas de fusión contemplados en la presente descripción. En modalidades particulares, las células se
5 usan en el tratamiento del cáncer. Las células pueden modificarse no genéticamente para expresar uno o más de los polipéptidos contemplados en la presente descripción, o en las modalidades particulares preferidas, las células pueden modificarse genéticamente para expresar uno o más de los polipéptidos contemplados en la presente descripción. Como se usa en la presente, el término "manipulado genéticamente" o "modificado genéticamente" se refiere
10 a la adición de material genético adicional en forma de ADN o ARN en el material genético total en una célula. Los términos, "células modificadas genéticamente", "células modificadas" y "células redirigidas", se usan indistintamente en modalidades particulares.

En modalidades particulares, uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente que reclutan un complejo de receptor inmunitario, contemplado en la
15 presente descripción, se introducen y expresan en células efectoras inmunitarias para mejorar la eficacia de las células efectoras inmunitarias. En modalidades particulares, uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente que reclutan un complejo de receptor inmunitario se introducen y expresan en células efectoras inmunitarias que se han redirigido a una célula diana en virtud de la coexpresión de un receptor de linfocitos exógeno o
20 un receptor de antígenos modificado genéticamente, por ejemplo, un TCR o CAR modificado genéticamente, en la célula.

En modalidades particulares, se contempla una célula efectora inmunitaria de doble direccionamiento donde la célula diana expresa un antígeno diana reconocido por el receptor inmunitario modificado genéticamente y un complejo de antígeno MHC reconocido por un TCR,
25 por ejemplo, un TCR modificado genéticamente/exógeno.

En modalidades particulares, se contempla una célula efectora inmunitaria de doble direccionamiento donde la célula diana expresa CD33, CD123, CLL1, B7-H3, BCMA, CD19, CD20, CD22, CD79A, CD79B, EGFR, EGFRvIII o un ligando NKG2D reconocido por un receptor inmunitario modificado genéticamente, y un antígeno diana reconocido por un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente, por ejemplo, un TCR o CAR modificado genéticamente/exógeno.

Una "célula efectora inmunitaria", es cualquier célula del sistema inmunitario que tenga una o más funciones efectoras (por ejemplo, actividad de destrucción de células citotóxicas, secreción de citocinas, inducción de ADCC y/o CDC). Las células efectoras inmunitarias ilustrativas contempladas en la presente descripción son linfocitos T, que incluyen, pero no se limitan a, células T citotóxicas (CTL; células T CD8⁺), TIL, y células T cooperadoras (HTL; células T CD4⁺). En una modalidad particular, las células comprenden células $\alpha\beta$ -T. En una modalidad particular, las células comprenden células $\gamma\delta$ -T. En una modalidad, las células efectoras inmunitarias incluyen células asesinas naturales (NK). En una modalidad, las células efectoras inmunitarias incluyen células T asesinas naturales (NKT).

Las células efectoras inmunitarias pueden ser autólogas/autogénicas ("propias") o no autólogas ("no propias", por ejemplo, alogénicas, singénicas o xenogénicas). "Autólogas", como se usa en la presente, se refiere a células del mismo sujeto. "Alogénicas", como se usa en la presente, se refiere a células de la misma especie que difieren genéticamente de la célula en comparación. "Singénicas", como se usa en la presente, se refiere a células de un sujeto diferente que son genéticamente idénticas a la célula en comparación. "Xenogénicas", como se usa en la presente, se refiere a células de una especie diferente a la célula en comparación. En modalidades preferidas, las células son células efectoras inmunitarias autólogas humanas.

Las células efectoras inmunitarias ilustrativas adecuadas para introducir uno o más receptores inmunitarios modificados genéticamente o componentes contemplados en la presente descripción incluyen linfocitos T. Los términos "células T" o "linfocitos T" son

reconocidos en la técnica y están destinados a incluir timocitos, linfocitos T inmaduros, linfocitos T maduros, linfocitos T en reposo o linfocitos T activados. Una célula T puede ser una célula T auxiliar (Th), por ejemplo una célula T auxiliar 1 (Th1) o T auxiliar 2 (Th2). La célula T puede ser una célula T auxiliar (HTL; célula T CD4⁺) célula T CD4⁺, una célula T citotóxica (CTL; célula T CD8⁺), célula T CD4⁺CD8⁺, célula T CD4⁻CD8⁻ o cualquier otro subconjunto de células T. Otras poblaciones ilustrativas de células T adecuadas para su uso en modalidades particulares incluyen células T vírgenes y células T de memoria. Por ejemplo, poblaciones de células T adecuadas para su uso en modalidades particulares incluyen células T vírgenes (T_N), células madre de memoria T (T_{SCM}), células T de memoria central (T_{CM}), células T de memoria efectoras (T_{EM}), y células T efectoras (T_{EFF}).

Como entenderá el experto en la técnica, otras células también pueden usarse como células efectoras inmunitarias que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción. En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias también incluyen células NK, células NKT, neutrófilos y macrófagos. Las células efectoras inmunitarias también incluyen progenitoras de células efectoras en donde tales células progenitoras pueden inducirse para diferenciarse en células efectoras inmunitarias *in vivo* o *in vitro*. Por lo tanto, en modalidades particulares, la célula efectora inmunitaria incluye progenitoras de células efectoras inmunitarias tales como células madre hematopoyéticas (HSC) contenidas dentro de la población CD34⁺ de células derivadas de sangre de cordón, médula ósea o sangre periférica movilizada que tras la administración en un sujeto se diferencian en células efectoras inmunitarias maduras, o que pueden inducirse *in vitro* para diferenciarse en células efectoras inmunitarias maduras.

La expresión, "célula CD34⁺", como se usa en la presente, se refiere a una célula que expresa la proteína CD34 en su superficie celular. "CD34", como se usa en la presente descripción, se refiere a una glicoproteína de superficie celular (por ejemplo, proteína sialomucina) que frecuentemente actúa como un factor de adhesión celular y está implicada en

la entrada de células T en los ganglios linfáticos. La población de células CD34+ contiene células madre hematopoyéticas (HSC), que tras la administración a un paciente se diferencian y contribuyen a todos los linajes hematopoyéticos, incluidas las células T, las células NK, las células NKT, los neutrófilos y las células del linaje de monocitos/macrófagos.

5 Los métodos para producir las células efectoras inmunitarias que expresan uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción se proporcionan en modalidades particulares. En una modalidad, el método comprende transfectar o transducir células efectoras inmunitarias aisladas de un individuo de manera que las células efectoras inmunitarias con uno o más ácidos nucleicos y/o vectores o
10 combinaciones de estos comprendan uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción. En una modalidad, el método comprende transfectar o transducir células efectoras inmunitarias aisladas de un individuo de manera que las células efectoras inmunitarias expresen uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y un receptor de linfocitos exógeno o
15 receptores de antígenos modificados genéticamente contemplados en la presente descripción (por ejemplo, TCR, CAR, CCR, zetacinas o receptores de flip). En ciertas modalidades, las células efectoras inmunitarias se aíslan de un individuo y se modifican genéticamente sin manipulación adicional *in vitro*. Tales células pueden entonces volver a administrarse directamente a la persona. En modalidades adicionales, las células efectoras inmunitarias se
20 activan y estimulan primero para proliferar *in vitro* antes de modificarse genéticamente. Con respecto a esto, las células efectoras inmunitarias pueden cultivarse antes y/o después de modificarse genéticamente.

 En modalidades particulares, las células son células humanas. En modalidades particulares, antes de la manipulación o modificación genética *in vitro* de las células efectoras
25 inmunitarias descritas en la presente descripción, la fuente de células se obtiene de un sujeto.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas comprenden células T.

Las células T pueden obtenerse a partir de una serie de fuentes que incluyen, pero sin limitarse a, células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de ganglios linfáticos, sangre de cordón, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, efusión pleural, tejido del bazo y tumores. En ciertas modalidades, las células T pueden obtenerse a partir de una unidad de sangre recolectada de un sujeto mediante el uso de una serie de técnicas conocidas por el experto en la técnica, tales como la sedimentación, por ejemplo, separación con FICOLL™.

En otras modalidades, se usa una población aislada o purificada de células T. En algunas modalidades, después del aislamiento de PBMC, tanto los linfocitos T citotóxicos como los cooperadores pueden clasificarse en subpoblaciones de células T vírgenes, de memoria y efectoras ya sea antes o después de la activación, expansión y/o modificación genética.

En una modalidad, una población aislada o purificada de células T expresa uno o más de los marcadores que incluyen, pero no se limitan a, un CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, o combinaciones de estos.

En ciertas modalidades, las células T se aíslan de un individuo y se activan y estimulan primero para proliferar *in vitro* antes de modificarse para expresar uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente.

Para lograr suficientes dosis terapéuticas de composiciones de células T, las células T frecuentemente se someten a una o más rondas de estimulación, activación y/o expansión. En modalidades particulares, las células T pueden activarse y expandirse generalmente mediante el uso de métodos como se describió, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; y 6,867,041, cada una de las cuales se incorpora en la presente descripción por referencia en su totalidad.

En modalidades particulares, las células T se activan y expanden por aproximadamente 6 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 18 horas o aproximadamente 24 horas antes de la introducción de vectores o polinucleótidos que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente, opcionalmente en combinación con un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente contemplados en la presente descripción.

En una modalidad, las células T se activan al mismo tiempo que se modifican.

En varias modalidades, un método para generar una célula efectora inmunitaria comprende activar una población de células que comprenden células T y expandir la población de células T. La activación de las células T puede lograrse al proporcionar una señal de estimulación primaria a través del complejo de TCR/CD3 de células T y al proporcionar una señal de coestimulación secundaria a través de una molécula accesoria, por ejemplo, CD28.

El complejo de TCR/CD3 puede estimularse al poner en contacto la célula T con un agente de unión a CD3 adecuado, por ejemplo, un ligando de CD3 o un anticuerpo monoclonal anti-CD3. Los ejemplos ilustrativos de anticuerpos contra CD3 incluyen, pero no se limitan a, OKT3, G19-4, BC3 y 64.1.

Además de la señal de estimulación primaria proporcionada a través del complejo de TCR/CD3, la inducción de las respuestas de las células T requiere una segunda señal coestimuladora. En modalidades particulares, puede usarse un agente de unión a CD28 para proporcionar una señal coestimuladora. Los ejemplos ilustrativos de agentes de unión a CD28 incluyen, pero no se limitan a: ligandos de CD28 naturales, por ejemplo, un ligando natural para CD28 (por ejemplo, un miembro de la familia de proteínas B7, tales como B7-1(CD80) y B7-2 (CD86); y anticuerpo monoclonal anti-CD28 o fragmento de este capaz de reticular la molécula de CD28, por ejemplo, anticuerpos monoclonales 9.3, B-T3, XR-CD28, KOLT-2, 15E8, 248.23.2, y EX5.3D10.

En una modalidad, la molécula que proporciona la señal de estimulación primaria, por ejemplo, una molécula que proporciona estimulación a través del complejo de TCR/CD3 y la molécula coestimuladora se acoplan a la misma superficie.

En ciertas modalidades, los agentes de unión que proporcionan señales estimuladoras y coestimuladoras se localizan en la superficie de una célula. Esto puede lograrse mediante la transfección o transducción de una célula con un ácido nucleico que codifica al agente unión en una forma adecuada para su expresión en la superficie celular o alternativamente por acoplamiento de un agente de unión a la superficie celular.

En otra modalidad, la molécula que proporciona la señal de estimulación primaria, por ejemplo, una molécula que proporciona estimulación a través del complejo de TCR/CD3 y la molécula coestimuladora se visualizan en las células que presentan el antígeno.

En una modalidad, la molécula que proporciona la señal de estimulación primaria, por ejemplo, una molécula que proporciona estimulación a través del complejo de TCR/CD3 y la molécula coestimuladora se proporcionan en superficies separadas.

En una modalidad determinada, uno de los agentes de unión que proporciona señales estimuladoras y coestimuladoras es soluble (proporcionado en solución) y el o los otros agentes se proporcionan en una o más superficies. En una modalidad particular, los agentes de unión que proporcionan señales estimuladoras y coestimuladoras se proporcionan en una forma soluble (proporcionada en solución). En varias modalidades, los métodos para producir células T contempladas en la presente descripción comprenden activar células T con anticuerpos anti-CD3 solubles y/o anti-CD28 solubles, o fragmentos de estos. En varias modalidades, los métodos para producir células T contempladas en la presente descripción comprenden activar células T con anticuerpos anti-CD3 unidos a la superficie y/o anti-CD28 unidos a la superficie, o fragmentos de estos. En varias modalidades, los métodos para producir células T contempladas en la presente descripción comprenden activar células T con anticuerpos anti-CD3 unidos a esferas y/o anti-CD28 unidos a esferas, o fragmentos de estos.

En una modalidad, la expansión de células T activadas por los métodos contemplados en la presente descripción comprende además cultivar una población de células que comprenden células T durante varias horas (aproximadamente 3 horas) a aproximadamente 7 días a aproximadamente 28 días o cualquier valor entero por hora intermedio. En otra

5 modalidad, la composición de células T puede cultivarse durante 14 días. En una modalidad particular, las células T se cultivan durante alrededor de 21 días. En otra modalidad, las composiciones de células T se cultivan durante alrededor de 2-3 días. También pueden desearse varios ciclos de estimulación/activación/expansión.

En modalidades particulares, las condiciones apropiadas para el cultivo de células T

10 incluyen un medio apropiado (por ejemplo, Medios Esenciales Mínimos o Medios RPMI 1640 o, X-vivo 15, (Lonza)) y uno o más factores necesarios para la proliferación y viabilidad que incluyen, pero sin limitarse al suero (por ejemplo, suero fetal bovino o humano), interleucina-2 (IL-2), insulina, IFN- γ , IL-4, IL-7, IL-21, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β y TNF- α o cualquier otro aditivo adecuado para el crecimiento de células conocidas por el experto en la técnica.

15 Otros ejemplos ilustrativos de medios de cultivo celular incluyen, pero no se limitan a, RPMI 1640, Clicks, AIM-V, DMEM, MEM, α -MEM, IMDM, F-12, X-Vivo 15 y X-Vivo 20, Optimizer, con aminoácidos añadidos, piruvato de sodio y vitaminas, ya sea sin suero o complementado con una cantidad adecuada de suero (o plasma) o un conjunto definido de hormonas, y/o una cantidad de citocina(s) suficiente para el crecimiento y expansión de células

20 T.

Los antibióticos, por ejemplo, penicilina y estreptomicina, se incluyen solo en cultivos experimentales, no en cultivos de células que se van a infundir en un sujeto. Las células diana se mantienen en las condiciones necesarias para soportar el crecimiento, por ejemplo, una temperatura y atmósfera apropiadas (por ejemplo, 37 °C) (por ejemplo, aire más 5 % de CO₂).

25 En modalidades particulares, las PBMC o células T aisladas se ponen en contacto con un agente estimulador y un agente coestimulador, tales como anticuerpos anti-CD3 y anti-

CD28, generalmente unidos a una esfera u otra superficie, en un medio de cultivo con citocinas apropiadas, tales como IL-2, IL-7, y/o IL-15.

En otras modalidades, las células APC artificiales (aAPC) producidas mediante la modificación genética de las células K562, U937, 721.221, T2 y C1R para dirigir la expresión y secreción estables, de una variedad de moléculas y citocinas coestimuladoras. En una modalidad particular se usan aAPC K32 o U32 para dirigir la visualización de una o más moléculas estimuladoras basadas en anticuerpos en la superficie celular de AAPC. Las poblaciones de células T pueden expandirse mediante aAPC que expresan una variedad de moléculas coestimuladoras que incluyen, pero sin limitarse a, CD137L (4-1BBL), CD134L (OX40L) y/o CD80 o CD86. Finalmente, las aAPC proporcionan una plataforma eficiente para expandir células T modificadas genéticamente y mantener la expresión de CD28 en células T CD8. Las aAPC proporcionadas en los documentos WO 03/057171 y US2003/0147869 se incorporan en su totalidad por referencia..

En una modalidad particular, un polinucleótido que codifica uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente se introduce en la población de células T. En una modalidad particular, se introduce un polinucleótido que codifica uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente en una población de células T que expresan un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente. Los polinucleótidos pueden introducirse en las células T mediante microinyección, transfección, lipofección, choque térmico, electroporación, transducción, pistola génica, microinyección, transferencia mediada por DEAE-dextrano, y similares.

En una modalidad preferida, los polinucleótidos se introducen en una célula T mediante transducción viral.

Los ejemplos ilustrativos de sistemas de vectores virales adecuados para introducir un polinucleótido en una célula efectora inmunitaria o una célula CD34⁺ incluyen, pero no se limitan

a, virus adenoasociado (AAV), retrovirus, virus del herpes simple, adenovirus, vectores del virus vaccinia para la transferencia génica.

En una modalidad, los polinucleótidos se introducen en una célula T mediante transducción de AAV. En una modalidad, los polinucleótidos se introducen en una célula T mediante transducción retroviral. En una modalidad, los polinucleótidos se introducen en una célula T mediante transducción lentiviral. En una modalidad, los polinucleótidos se introducen en una célula T mediante transducción de adenovirus. En una modalidad, los polinucleótidos se introducen en una célula T mediante transducción del virus del herpes simple. En una modalidad, los polinucleótidos se introducen en una célula T mediante transducción del virus vaccinia.

H. COMPOSICIONES Y FORMULACIONES

Las composiciones contempladas en la presente descripción pueden comprender uno o más polipéptidos de receptor inmunitario modificado genéticamente, polinucleótidos que codifican polipéptidos de receptor inmunitario modificado genéticamente, vectores que los comprenden, células efectoras inmunitarias modificadas genéticamente, factores de formación de puentes, *etc.* Las composiciones incluyen, pero no se limitan a, composiciones farmacéuticas. Una "composición farmacéutica" se refiere a una composición formulada en soluciones farmacéuticamente aceptables o fisiológicamente aceptables para la administración a una célula o un animal, ya sea sola o en combinación con una o más modalidades de terapia. También se entenderá que, si se desea, las composiciones también pueden administrarse en combinación con otros agentes, tales como, por ejemplo, citocinas, factores de crecimiento, hormonas, moléculas pequeñas, quimioterapéuticos, profármacos, fármacos, anticuerpos u otros diversos agentes farmacéuticamente activos. Prácticamente no hay límite a otros componentes que también pueden incluirse en las composiciones, siempre y cuando los agentes adicionales no afecten negativamente la capacidad de la composición para suministrar la terapia prevista.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente descripción para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

El término "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el cual se administran los factores de formación de puentes, polipéptidos, polinucleótidos, vectores que los comprenden, o células efectoras inmunitarias modificadas genéticamente. Los ejemplos ilustrativos de portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como medios de cultivo celular, agua y aceites, que incluyen los de petróleo, origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuate, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también pueden emplearse como portadores líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los excipientes farmacéuticos adecuados en modalidades particulares incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada seca, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. Los ingredientes activos complementarios también pueden incorporarse en las composiciones.

En una modalidad, una composición que comprende un portador farmacéuticamente aceptable es adecuada para la administración a un sujeto. En modalidades particulares, una composición que comprende un portador es adecuada para la administración parenteral, por ejemplo, administración intravascular (intravenosa o intraarterial), intraperitoneal o intramuscular. En modalidades particulares, una composición que comprende un portador farmacéuticamente aceptable es adecuada para la administración intraventricular, intraespinal o

intratecal. Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones acuosas estériles, medios de cultivo celular o dispersiones. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce bien en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con los factores de formación de puentes, polipéptidos, polinucleótidos, vectores que los comprenden, o células efectoras inmunitarias modificadas genéticamente, se contempla su uso en las composiciones farmacéuticas.

En modalidades particulares, las composiciones contempladas en la presente descripción comprenden células T modificadas genéticamente y un portador farmacéuticamente aceptable. Una composición que comprende una composición a base de células contemplada en la presente descripción puede administrarse por separado mediante métodos de administración enteral o parenteral o en combinación con otros compuestos adecuados para efectuar los objetivos de tratamiento deseados.

En modalidades particulares, las composiciones contempladas en la presente descripción comprenden un factor de formación de puentes y un portador farmacéuticamente aceptable.

El portador farmacéuticamente aceptable debe ser de pureza suficientemente alta y de toxicidad suficientemente baja para hacerlo adecuado para la administración al sujeto humano que se está tratando. Además, debe mantener o aumentar la estabilidad de la composición. El portador farmacéuticamente aceptable puede ser líquido o sólido y se selecciona, con la forma prevista de administración en mente, para proporcionar el volumen, consistencia, *etc.* deseados, cuando se combina con otros componentes de la composición. Por ejemplo, el portador farmacéuticamente aceptable puede ser, sin limitación, un agente de unión (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa, *etc.*), un relleno (por ejemplo, lactosa y otros azúcares, celulosa microcristalina, pectina, gelatina, sulfato de calcio, etilcelulosa, poliacrilatos, fosfato de hidrógeno de calcio, *etc.*) un lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio, talco, sílice, dióxido de silicio coloidal, ácido esteárico, estearatos

metálicos, aceites vegetales hidrogenados, almidón de maíz, polietilenglicol, benzoato de sodio, acetato de sodio, etc.), un desintegrante (por ejemplo, almidón, almidón glicolato de sodio, etc.), o un agente humectante (por ejemplo, laurilsulfato de sodio, etc.). Otros portadores farmacéuticamente aceptables adecuados para las composiciones contempladas en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, agua, soluciones salinas, alcoholes, polietilenglicoles, gelatinas, amilasas, estearatos de magnesio, talcos, ácidos silícicos, parafinas viscosas, hidroximetilcelulosas, polivinilpirrolidonas y similares.

Tales soluciones portadoras también pueden contener tampones, diluyentes y otros aditivos adecuados. El término "tampón", como se usa en la presente descripción, se refiere a una solución o líquido cuya estructura química neutraliza ácidos o bases sin un cambio significativo en el pH. Los ejemplos de tampones contemplados en la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, solución salina tamponada con fosfato (PBS) de Dulbecco, solución de Ringer, dextrosa al 5 % en agua (D5W), solución salina normal/fisiológica (NaCl al 0.9 %).

Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden estar presentes en cantidades suficientes para mantener un pH de la composición de alrededor de 7. Alternativamente, la composición tiene un pH en un intervalo de alrededor de 6.8 a alrededor de 7.4, por ejemplo, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3 y 7.4. En aún otra modalidad, la composición tiene un pH de alrededor de 7.4.

Las composiciones contempladas en la presente descripción pueden comprender un medio farmacéuticamente aceptable no tóxico. Las composiciones pueden ser una suspensión. El término "suspensión", como se usa en la presente descripción, se refiere a condiciones no adherentes en las que las células no se unen a un soporte sólido. Por ejemplo, las células mantenidas como una suspensión pueden revolverse o agitarse y no se adhieren a un soporte, tal como una placa de cultivo.

En modalidades particulares, las composiciones contempladas en la presente descripción se formulan en una suspensión, donde las células T modificadas se dispersan dentro de un medio o solución líquida aceptable, por ejemplo, medio libre de suero o solución salina, en una bolsa intravenosa (IV) o similar. Los diluyentes aceptables incluyen, pero no se limitan a, agua, PlasmaLyte, solución de Ringer, solución de cloruro de sodio isotónica (solución salina), medio de cultivo celular libre de suero, y medio adecuado para el almacenamiento criogénico, por ejemplo, medio Criostor®.

En ciertas modalidades, un portador farmacéuticamente aceptable está sustancialmente libre de proteínas naturales de origen humano o animal, y es adecuado para almacenar una composición que comprende una población de células T modificadas. La composición terapéutica pretende administrarse a un paciente humano, y por lo tanto está sustancialmente libre de componentes de cultivo celular tales como albúmina sérica bovina, suero de caballo y suero fetal bovino.

En algunas modalidades, las composiciones se formulan en un medio de cultivo celular farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones son adecuadas para la administración a sujetos humanos. En modalidades particulares, el medio de cultivo celular farmacéuticamente aceptable es un medio libre de suero.

El medio libre de suero tiene varias ventajas sobre el medio que contiene suero, que incluye una composición simplificada y mejor definida, un grado reducido de contaminantes, la eliminación de una fuente potencial de agentes infecciosos y un menor costo. En varias modalidades, el medio libre de suero está libre de animales y opcionalmente puede estar libre de proteínas. Opcionalmente, el medio puede contener proteínas recombinantes biofarmacéuticamente aceptables. El medio "libre de animales" se refiere al medio en donde los componentes se derivan de fuentes no animales. Las proteínas recombinantes reemplazan a las proteínas animales nativas en medio libre de animales y los nutrientes se obtienen de

fuentes sintéticas, vegetales o microbianas. El medio "libre de proteínas", por el contrario, se define como sustancialmente libre de proteínas.

Los ejemplos ilustrativos de medios libres de suero usados en composiciones particulares incluyen, pero no se limitan a, QBSF-60 (Quality Biological, Inc.), StemPro-34 (Life Technologies), y X-VIVO 10.

En una modalidad preferida, las composiciones que comprenden células T modificadas se formulan en PlasmaLyte.

En varias modalidades, las composiciones que comprenden células T modificadas se formulan en un medio de criopreservación. Por ejemplo, los medios de criopreservación con agentes de criopreservación pueden usarse para mantener un resultado de alta viabilidad celular después de la descongelación. Los ejemplos ilustrativos de medios de criopreservación usados en composiciones particulares incluyen, pero sin limitarse a, CrioStor CS10, CrioStor CS5 y CrioStor CS2.

En una modalidad, las composiciones se formulan en una solución que comprende 50:50 de PlasmaLyte A con respecto a CryoStor CS10.

En modalidades particulares, la composición está sustancialmente libre de micoplasma, endotoxina, y contaminación microbiana. Por "esencialmente libre" con respecto a la endotoxina se entiende que hay menos endotoxina por dosis de células de la permitida por la FDA para un producto biológico, que es una endotoxina total de 5 EU/kg de peso corporal por día, que para una persona promedio de 70 kg es 350 EU por dosis total de células. En modalidades particulares, las composiciones contempladas en la presente descripción contienen de alrededor de 0.5 EU/mL a alrededor de 5.0 EU/mL, o alrededor de 0.5 EU/mL, 1.0 EU/mL, 1.5 EU/mL, 2.0 EU/mL, 2.5 EU/mL, 3.0 EU/mL, 3.5 EU/mL, 4.0 EU/mL, 4.5 EU/mL, o 5.0 EU/mL.

En modalidades particulares, la formulación de soluciones portadoras farmacéuticamente aceptables es bien conocida por los expertos en la técnica, al igual que el desarrollo de regímenes de dosificación y tratamiento adecuados para usar las composiciones

particulares descritas en la presente descripción en una variedad de regímenes de tratamiento, que incluye, por ejemplo, administración y formulación enteral y parenteral, por ejemplo, intravascular, intravenosa, intrarterial, intraósea, intraventricular, intracerebral, intracraneal, intraespinal, intratecal e intramedular. El experto en la técnica entenderá que las modalidades particulares contempladas en la presente descripción pueden comprender otras formulaciones, tales como las que se conocen bien en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, volumen I y volumen II. 22ª Edición.

Editado por Loyd V. Allen Jr. Filadelfia, PA: Pharmaceutical Press; 2012, que se incorpora como referencia en la presente descripción, en su totalidad.

En modalidades particulares, las composiciones comprenden una cantidad de células efectoras inmunitarias que expresan uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción. En modalidades particulares, las composiciones comprenden una cantidad de células efectoras inmunitarias que expresan un receptor de linfocitos exógeno o receptor de antígenos modificado genéticamente y uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción. Como se usa en la presente, el término "cantidad" se refiere a "una cantidad efectiva" de células que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción, etc., para lograr un resultado profiláctico o terapéutico beneficioso o deseado en presencia de un factor de formación de puentes, que incluye resultados clínicos.

Una "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad de células que comprenden uno o más componentes del receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción, etc., efectivos para lograr el resultado profiláctico deseado en presencia de un factor de formación de puentes. Típicamente, pero no necesariamente, dado que se usa una dosis profiláctica en sujetos antes o en una etapa

anterior de la enfermedad, la cantidad profilácticamente efectiva es menor que la cantidad terapéuticamente efectiva.

Una “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a una cantidad de células que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción que es efectiva para “tratar” a un sujeto (por ejemplo, un paciente) en presencia de un factor de formación de puentes. Cuando se indica una cantidad terapéutica, la cantidad precisa de las composiciones que se administrarán, células, factor de formación de puentes, etc., puede ser determinada por un médico teniendo en cuenta las diferencias individuales entre edad, peso, tamaño del tumor, extensión de la infección o metástasis y afección del paciente (sujeto).

Generalmente puede indicarse que una composición farmacéutica que comprende las células efectoras inmunitarias descritas en la presente descripción puede administrarse a una dosificación de 10^2 a 10^{10} células/kg de peso corporal, preferentemente de 10^5 a 10^6 células/kg de peso corporal, que incluye todos los valores enteros dentro de esos intervalos. El número de células dependerá del uso final para el que se destina la composición al igual que el tipo de células incluidas en la misma. Para los usos proporcionados en la presente descripción, las células están generalmente en un volumen de un litro o menos, pueden ser de 500 mL o menos, incluso 250 mL o 100 mL o menos. Por lo tanto, la densidad de las células deseadas es típicamente mayor que 10^6 células/mL y generalmente es mayor que 10^7 células/mL, generalmente 10^8 células/mL o mayor. El número clínicamente relevante de células inmunitarias puede dividirse en múltiples infusiones que de manera acumulativa sean iguales o superen 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} o 10^{12} células. En algunas modalidades, particularmente dado que todas las células infundidas se redirigirán a un antígeno diana particular, pueden administrarse cantidades menores de células, en el intervalo de 10^6 /kilogramo (10^6 - 10^{11} por paciente).

Si se desea, el tratamiento también puede incluir la administración de mitógenos (por ejemplo, PHA) o linfocinas, citocinas y/o quimiocinas (por ejemplo, IFN- γ , IL-2, IL-12, TNF- α ,

IL-18, y TNF-beta, GM-CSF, IL-4, IL-13, Flt3-L, RANTES, MIP1 α , etc.) como se describe en la presente descripción para potenciar la inducción de la respuesta inmunitaria.

Generalmente, las composiciones que comprenden las células activadas y expandidas como se describe en la presente descripción pueden utilizarse en el tratamiento y prevención de enfermedades que surgen en personas que están inmunodeprimidas. En particular, las composiciones contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento del cáncer. En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias pueden administrarse solas o como una composición farmacéutica en combinación con portadores, diluyentes, excipientes y/o con otros componentes tales como IL-2 u otras citocinas o poblaciones celulares.

En modalidades particulares, las composiciones farmacéuticas comprenden una cantidad de células T modificadas genéticamente, en combinación con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéutica o fisiológicamente aceptables.

En modalidades particulares, las composiciones farmacéuticas comprenden una cantidad de factor de formación de puentes, en combinación con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéutica o fisiológicamente aceptables.

En una modalidad particular, las composiciones comprenden una cantidad efectiva de células efectoras inmunitarias que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción, solo o en combinación con un factor de formación de puentes y/o uno o más agentes terapéuticos, tales como terapia de radiación, quimioterapia, trasplante, inmunoterapia, terapia hormonal, terapia fotodinámica, etc. Las composiciones también pueden administrarse en combinación con antibióticos. Tales agentes terapéuticos pueden aceptarse en la técnica como un tratamiento estándar para un estado de enfermedad particular como se describe en la presente descripción, tal como un cáncer particular. Los agentes terapéuticos ilustrativos contemplados incluyen citocinas, factores de crecimiento, esteroides, NSAID, DMARD, antiinflamatorios, quimioterapéuticos, radioterapéuticos, anticuerpos terapéuticos u otros agentes activos y auxiliares.

En una modalidad particular, una composición que comprende una cantidad efectiva de células efectoras inmunitarias que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción se administra a un sujeto, y una composición que comprende una cantidad efectiva de un factor de formación de puentes se administra al sujeto, antes, durante, en combinación con o posteriormente a la composición celular, y opcionalmente se administra repetidamente al sujeto.

En ciertas modalidades, las composiciones que comprenden células efectoras inmunitarias que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción pueden administrarse junto con cualquier número de agentes quimioterapéuticos.

Una variedad de otros agentes terapéuticos puede usarse junto con las composiciones descritas en la presente descripción. En una modalidad, la composición que comprende células efectoras inmunitarias que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción se administra con un agente antiinflamatorio. Los agentes o fármacos antiinflamatorios incluyen, pero sin limitarse a, esteroides y glucocorticoides (que incluyen betametasona, budesonida, dexametasona, acetato de hidrocortisona, hidrocortisona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, triamcinolona), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDS) que incluyen aspirina, ibuprofeno, naproxeno, metotrexato, sulfasalazina, leflunomida, medicamentos anti-TNF, ciclofosfamida y micofenolato.

Ejemplos ilustrativos de anticuerpos terapéuticos adecuados para el tratamiento combinado con las células T modificadas que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente contemplados en la presente descripción, incluyen, pero no se limitan a, atezolizumab, avelumab, bavituximab, bevacizumab (avastina), bivatuzumab, blinatumomab, conatumumab, daratumumab, duligotumab, dacetuzumab, dalotuzumab, durvalumab, elotuzumab (HuLuc63), gemtuzumab, ibritumomab, indatuximab, inotuzumab,

ipilimumab, lorvotuzumab, lucatumumab, milatuzumab, moxetumomab, nivolumab, ocaratuzumab, ofatumumab, pembrolizumab, rituximab, siltuximab, teprotumumab y ublituximab.

En ciertas modalidades, las composiciones descritas en la presente descripción se administran junto con una citocina. Por "citocina" como se usa en la presente se entiende un término genérico para proteínas liberadas por una población celular que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares. Ejemplos de tales citocinas son linfocinas, monocinas y hormonas polipeptídicas tradicionales.

I. MÉTODOS TERAPÉUTICOS

Las células efectoras inmunitarias modificadas para expresar uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y/o un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente contemplados en la presente descripción proporcionan métodos mejorados de inmunoterapia adoptiva para su uso en la prevención, tratamiento, y mejora, o para prevenir, tratar, o mejorar al menos un síntoma asociado con una enfermedad o trastorno relacionado con el sistema inmunitario, p. ej., cáncer, una enfermedad autoinmune, una inmunodeficiencia, una enfermedad inflamatoria, GVHD, o una enfermedad infecciosa.

Las células efectoras inmunitarias que comprenden un sistema de receptor inmunitario modificado genéticamente, p. ej., un componente de direccionamiento y un componente de señalización, proporcionan métodos mejorados de inmunoterapia adoptiva para su uso en la prevención, tratamiento, y mejora, o para prevenir, tratar, o mejorar al menos un síntoma asociado con una enfermedad o trastorno relacionado con el sistema inmunitario, p. ej., cáncer, una enfermedad autoinmune, una inmunodeficiencia, una enfermedad inflamatoria, GVHD, o una enfermedad infecciosa.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas para expresar uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente

proporcionan métodos mejorados de inmunoterapia adoptiva para afinar la seguridad y eficacia de una respuesta citotóxica contra las células diana, por ejemplo, células tumorales, que expresan antígenos diana mientras disminuyen el riesgo de antígeno en la diana, citotoxicidad de células fuera de la diana (reconociendo el antígeno diana en una célula normal no diana).

5 En modalidades particulares, un método para prevenir, tratar, o mejorar al menos un síntoma de una enfermedad o trastorno relacionado con el sistema inmunitario (por ejemplo, cáncer, una enfermedad autoinmune, una inmunodeficiencia, una enfermedad inflamatoria, GVHD, o una enfermedad infecciosa) comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de células efectoras inmunitarias modificadas o células T que comprenden uno o más
10 componentes de un sistema de receptor inmunitario modificado genéticamente y un TCR, CAR, u otro transgén terapéutico modificado genéticamente/exógeno para redirigir las células a una célula diana. Las células modificadas genéticamente son una inmunoterapia celular más eficaz y segura en virtud de la transducción de una señal inmunoestimuladora químicamente regulable.

15 En modalidades particulares, una o más células efectoras inmunitarias, por ejemplo, células T, se modifican para expresar tanto un componente de direccionamiento como un componente de señalización. En este caso, las células modificadas se administran a un sujeto que las necesita y que hospeda las células diana mediante la interacción del componente de
20 señalización expresado en la célula efectora inmunitaria y el antígeno diana expresado en la célula diana. Un factor de formación de puentes se administra al sujeto antes de las células modificadas, aproximadamente al mismo tiempo que las células modificadas, o después de que las células modificadas se hayan administrado al sujeto. En presencia del factor de formación de puentes, se forma un complejo entre el componente de direccionamiento unido al antígeno diana, el factor de formación de puentes y el componente de señalización unido a un complejo
25 de receptor inmunitario. Tras la formación del complejo, los componentes de señalización y de direccionamiento transducen una señal inmunoestimuladora a la célula efectora inmunitaria que

sinergiza con la señal del receptor inmunitario y, a su vez, induce una respuesta citotóxica de la célula efectora inmunitaria contra la célula diana.

En varias modalidades, las células efectoras inmunitarias que comprenden uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y/o un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente ajustan la seguridad y eficacia de una respuesta citotóxica contra las células diana mediante el uso de una estrategia de direccionamiento doble en donde una o más células diana expresan uno o más antígenos diana reconocidos por el receptor de linfocitos exógeno o el receptor de antígenos modificado genéticamente y el receptor inmunitario modificado genéticamente.

En modalidades particulares, una o más células efectoras inmunitarias, por ejemplo, células T, se modifican para expresar tanto el componente de direccionamiento como el componente de señalización y un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente, por ejemplo, un TCR, CAR, CCR, o receptor flip. En este caso, las células modificadas se administran a un sujeto que las necesita y hospeda las células diana mediante la interacción del componente de direccionamiento que se une a un primer antígeno diana y al receptor de antígeno, que se une a un segundo antígeno diana, en donde uno o ambos antígenos diana se expresan en las células diana o la población de células diana. La interacción del receptor de antígeno (por ejemplo, TCR) con un antígeno diana en la célula diana puede provocar una respuesta citotóxica de la célula efectora inmunitaria contra la célula diana. En algunas modalidades, un factor de formación de puentes se administra al sujeto antes de las células modificadas, aproximadamente al mismo tiempo que las células modificadas, o después de que las células modificadas se hayan administrado al sujeto. En presencia del factor de formación de puentes, se forma un complejo entre el componente de direccionamiento que se une a un primer antígeno diana, el factor de formación de puentes y el componente de señalización que se une a un complejo de receptor inmunitario. Tras la formación del complejo, los componentes de señalización y de direccionamiento transducen una señal

inmunoestimuladora a la célula efectora inmunitaria que sinergiza con la señal del receptor inmunitario y, a su vez, induce o aumenta una respuesta citotóxica de la célula efectora inmunitaria contra la célula diana.

En modalidades particulares, una o más células efectoras inmunitarias, por ejemplo, células T, se modifican para expresar tanto un componente de direccionamiento como un componente de señalización. En este caso, las células modificadas se administran a un sujeto que las necesita y que hospeda las células diana mediante la interacción del componente de señalización expresado en la célula efectora inmunitaria y el antígeno diana expresado en la célula diana. En algunas modalidades, un factor de formación de puentes se administra al sujeto antes de las células modificadas, aproximadamente al mismo tiempo que las células modificadas, o después de que las células modificadas se hayan administrado al sujeto. En presencia del factor de formación de puentes, se forma un complejo entre el componente de direccionamiento unido al antígeno diana, el factor de formación de puentes y un componente de señalización que comprende un dominio de multimerización, opcionalmente un polipéptido enlazador, y un dominio accionador (por ejemplo, Fcγ, CD3ε, CD3δ o CD3γ o fragmento de estos). Tras la formación del complejo, los componentes de señalización y de direccionamiento transducen una señal inmunoestimuladora a la célula efectora inmunitaria que sinergiza con la señal del receptor inmunitario y, a su vez, induce una respuesta citotóxica de la célula efectora inmunitaria contra la célula diana.

En modalidades particulares, una o más células efectoras inmunitarias, por ejemplo, células T, se modifican para expresar tanto el componente de direccionamiento como el componente de señalización y un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente, por ejemplo, un TCR modificado genéticamente/exógeno. En este caso, las células modificadas se administran a un sujeto que las necesita y hospeda las células diana mediante la interacción del componente de direccionamiento que se une a un primer antígeno diana y al receptor inmunitario, que se une a un segundo antígeno diana, en donde

uno o ambos antígenos diana se expresan en las células diana o la población de células diana. La interacción del TCR con un antígeno diana en la célula diana puede provocar una respuesta citotóxica de la célula efectora inmunitaria contra la célula diana. Un factor de formación de puentes se administra al sujeto antes de las células modificadas, aproximadamente al mismo tiempo que las células modificadas, o después de que las células modificadas se hayan administrado al sujeto. En presencia del factor de formación de puentes, se forma un complejo entre el componente de direccionamiento que se une a un primer antígeno diana, el factor de formación de puentes y un componente de señalización que comprende un dominio de multimerización, opcionalmente un polipéptido enlazador, y Fcγ, CD3ε, CD3δ o CD3γ o fragmento de estos. Tras la formación del complejo, los componentes de señalización y de direccionamiento transducen una señal inmunoestimuladora a la célula efectora inmunitaria que sinergiza con la señal del receptor inmunitario y, a su vez, induce o aumenta una respuesta citotóxica de la célula efectora inmunitaria contra la célula diana.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de tumores sólidos o cánceres.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de tumores sólidos o cánceres que incluyen, pero no se limitan a: cáncer de la glándula suprarrenal, carcinoma corticosuprarrenal, cáncer anal, cáncer de apéndice, astrocitoma, tumor teratoide/rabdoide atípico, carcinoma de células basales, cáncer de los conductos biliares, cáncer de vejiga, cáncer óseo, cáncer de cerebro/CNS, cáncer de mama, tumores bronquiales, tumores cardíacos, cáncer cervical, colangiocarcinoma, condrosarcoma, cordoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, carcinoma ductal in situ (DCIS), cáncer endometrial, ependimoma, cáncer esofágico, estesioblastoma, sarcoma de Ewing, tumor germinal extracraneal, tumor germinal extragonadal, cáncer de ojo, cáncer de trompa de Falopio,

histiocitoma fibroso, fibrosarcoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, tumores
carcinoides gastrointestinales, tumor del estroma gastrointestinal (GIST), tumores de células
germinales, glioma, glioblastoma, cáncer de cabeza y cuello, hemangioblastoma, cáncer
hepatocelular, cáncer hipofaríngeo, melanoma intraocular, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón,
5 cáncer laríngeo, leiomiosarcoma, cáncer de labio, liposarcoma, cáncer de hígado, cáncer de
pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, tumor carcinoide pulmonar, mesotelioma
maligno, carcinoma medular, meduloblastoma, meningioma, melanoma, carcinoma de células
de Merkel, carcinoma de la vía media, cáncer de boca, mixosarcoma, síndrome mielodisplásico,
neoplasias mieloproliferativas, cáncer de la cavidad nasal y seno paranasal, cáncer
10 nasofaríngeo, neuroblastoma, oligodendroglioma, cáncer oral, cáncer de cavidad oral, cáncer
de orofaringe, osteosarcoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, tumores de células de los
islotes pancreáticos, carcinoma papilar, paraganglioma, cáncer de paratiroides, cáncer de pene,
cáncer faríngeo, feocromocitoma, pinealoma, tumor pituitario, blastoma pleuropulmonar, cáncer
peritoneal primario, cáncer de próstata, cáncer rectal, retinoblastoma, carcinoma de células
15 renales, cáncer de pelvis renal y uréter, rhabdomyosarcoma, cáncer de glándulas salivales,
carcinoma de glándulas sebáceas, cáncer de piel, sarcoma de tejidos blandos, carcinoma de
células escamosas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, cáncer
gástrico, carcinoma de glándulas sudoríparas, sinovialoma, cáncer testicular, cáncer de
garganta, cáncer de timo, cáncer de tiroides, cáncer de uretra, cáncer uterino, sarcoma uterino,
20 cáncer vaginal, cáncer vascular, cáncer vulvar y tumor de Wilms.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas
contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de tumores sólidos o
cánceres que incluyen, sin limitación, carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma
de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de
25 mama, cáncer de tiroides, cáncer de vejiga, cáncer de cuello uterino, cáncer de esófago, cáncer

de ovario, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, gliomas, glioblastomas, y oligodendroglioma.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de tumores sólidos o

5 cánceres que incluyen, sin limitación, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal metastásico, glioblastoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de páncreas, y cáncer de mama.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de glioblastoma.

10 En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de cánceres líquidos o cánceres hematológicos.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de neoplasias malignas de

15 células B, que incluyen, pero no se limitan a: leucemias, linfomas y mieloma múltiple.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de cánceres líquidos que incluyen, pero sin limitarse a leucemias, linfomas y mielomas múltiples: leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica,

20 monocítica, eritroleucemia, leucemia de células pilosas (HCL), leucemia linfocítica crónica (CLL) y leucemia mieloide crónica (CML), leucemia mielomonocítica crónica (CMML) y policitemia vera, linfoma de Hodgkin, linfoma de Hodgkin con predominio de linfocitos nodulares, linfoma de Burkitt, linfoma linfocítico pequeño (SLL), linfoma difuso de células B grandes, linfoma folicular, linfoma de células grandes inmunoblásticas, linfoma precursor linfoblástico B, linfoma del

25 manto, linfoma de zona marginal, micosis fungoide, linfoma de células grandes anaplásicas, síndrome de Sézary, linfoma precursor linfoblástico T, mieloma múltiple, mieloma múltiple

manifiesto, mieloma múltiple incipiente, leucemia de células plasmáticas, mieloma no secretor, mieloma IgD, mieloma osteoesclerótico, plasmocitoma solitario óseo y plasmocitoma extramedular.

En modalidades particulares, las células efectoras inmunitarias modificadas

5 contempladas en la presente descripción se usan en el tratamiento de leucemia mieloide aguda (AML).

Las células preferidas para su uso en los métodos contemplados en la presente descripción incluyen células autólogas/autogénicas ("propias"), preferentemente células hematopoyéticas, con mayor preferencia células T, y con mayor preferencia células efectoras
10 inmunitarias.

En modalidades particulares, un método comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células efectoras inmunitarias modificadas que expresan uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente, y opcionalmente un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente u otro
15 componente de direccionamiento o señalización, o una composición que los comprende, a un paciente que lo necesita, y opcionalmente también administrar un factor de formación de puentes al sujeto. En ciertas modalidades, las células se usan en el tratamiento de pacientes en riesgo de desarrollar un trastorno inmunitario. Por lo tanto, las modalidades particulares comprenden el tratamiento o prevención o mejora de al menos un síntoma de una enfermedad
20 o trastorno inmunitario, p. ej., cáncer o enfermedad autoinmune, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita, una cantidad terapéuticamente efectiva de las células efectoras inmunitarias modificadas contempladas en la presente descripción y, opcionalmente, un factor de formación de puentes.

La cantidad y la frecuencia de administración de células efectoras inmunitarias

25 modificadas, componentes de direccionamiento, y/ factor de formación de puentes se determinarán por factores tales como la afección del paciente, y el tipo y la gravedad de la

enfermedad del paciente, aunque los ensayos clínicos pueden determinar las dosificaciones adecuadas y programas de dosificación.

En una modalidad ilustrativa, la cantidad efectiva de células efectoras inmunitarias modificadas proporcionadas a un sujeto es al menos 2×10^6 células/kg, al menos 3×10^6 células/kg, al menos 4×10^6 células/kg, al menos 5×10^6 células/kg, al menos 6×10^6 células/kg, al menos 7×10^6 células/kg, al menos 8×10^6 células/kg, al menos 9×10^6 células/kg, o al menos 10×10^6 células/kg, o más células/kg, incluidas todas las dosis intermedias de células.

En otra modalidad ilustrativa, la cantidad efectiva de células efectoras inmunitarias modificadas proporcionadas a un sujeto es de alrededor de 2×10^6 células/kg, alrededor de 3×10^6 células/kg, alrededor de 4×10^6 células/kg, alrededor de 5×10^6 células/kg, alrededor de 6×10^6 células/kg, alrededor de 7×10^6 células/kg, alrededor de 8×10^6 células/kg, alrededor de 9×10^6 células/kg o alrededor de 10×10^6 células/kg, o más células/kg, incluidas todas las dosis intermedias de células.

En otra modalidad ilustrativa, la cantidad efectiva de células efectoras inmunitarias modificadas proporcionadas a un sujeto es de alrededor de 2×10^6 células/kg a alrededor de 10×10^6 células/kg, alrededor de 3×10^6 células/kg a alrededor de 10×10^6 células/kg, alrededor de 4×10^6 células/kg a alrededor de 10×10^6 células/kg, alrededor de 5×10^6 células/kg a alrededor de 10×10^6 células/kg, 2×10^6 células/kg a alrededor de 6×10^6 células/kg, 2×10^6 células/kg a alrededor de 7×10^6 células/kg, 2×10^6 células/kg a alrededor de 8×10^6 células/kg, 3×10^6 células/kg a alrededor de 6×10^6 células/kg, 3×10^6 células/kg a alrededor de 7×10^6 células/kg, 3×10^6 células/kg a alrededor de 8×10^6 células/kg, 4×10^6 células/kg a alrededor de 6×10^6 células/kg, 4×10^6 células/kg a alrededor de 7×10^6 células/kg, 4×10^6 células/kg a alrededor de 8×10^6 células/kg, 5×10^6 células/kg a alrededor de 6×10^6 células/kg, 5×10^6 células/kg a alrededor de 7×10^6 células/kg, 5×10^6 células/kg a alrededor de 8×10^6 células/kg

o 6×10^6 células/kg a alrededor de 8×10^6 células/kg, incluidas todas las dosis intermedias de células.

Un experto en la técnica reconocería que pueden requerirse múltiples administraciones de las composiciones contempladas en modalidades particulares para efectuar la terapia deseada. Por ejemplo, una composición puede administrarse 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más veces durante un intervalo de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 1 año, 2 años, 5 años, 10 años o más. Las células efectoras inmunitarias modificadas, los componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y/o el factor de formación de puentes pueden administrarse en la misma o diferentes composiciones; en una o más composiciones al mismo tiempo; o más de una composición en diferentes momentos. Las células efectoras inmunitarias modificadas, los componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente (por ejemplo, los componentes de direccionamiento), y/o el factor de formación de puentes pueden administrarse a través de la misma vía de administración o diferentes vías.

En ciertas modalidades, puede ser deseable administrar células T activadas a un sujeto y subsecuentemente volver a extraer la sangre (o realizar una aféresis), activar las células T de la misma y reinfundir al paciente estas células T activadas y expandidas. Este proceso puede llevarse a cabo varias veces cada pocas semanas. En ciertas modalidades, las células T pueden activarse a partir de extracciones de sangre de 10 cc a 400 cc. En ciertas modalidades, las células T se activan a partir de extracciones de sangre de 20 cc, 30 cc, 40 cc, 50 cc, 60 cc, 70 cc, 80 cc, 90 cc, 100 cc, 150 cc, 200 cc, 250 cc, 300 cc, 350 cc o 400 cc o más. No debe limitarse a la teoría, el uso de este protocolo de extracción de sangre múltiple/reinfusión múltiple puede servir para seleccionar ciertas poblaciones de células T.

En una modalidad, un método para tratar a un sujeto diagnosticado con una enfermedad o trastorno inmunitario (p. ej., cáncer o enfermedad autoinmune), comprende eliminar las células efectoras inmunitarias del sujeto, modificar las células efectoras inmunitarias mediante

la introducción de uno o más vectores que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente en la célula y producir una población de células efectoras inmunitarias modificadas, y administrar la población de células efectoras inmunitarias modificadas al mismo sujeto. En una modalidad preferida, las células efectoras inmunitarias comprenden células T.

En una modalidad, un método para tratar a un sujeto diagnosticado con un cáncer o enfermedad autoinmune, comprende administrar uno o más vectores que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente al sujeto. En una modalidad preferida, las células efectoras inmunitarias comprenden células T.

En una modalidad, un método para tratar a un sujeto diagnosticado con un cáncer comprende eliminar las células efectoras inmunitarias del sujeto, modificar las células efectoras inmunitarias mediante la introducción de uno o más vectores que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y opcionalmente un receptor de linfocitos exógeno o receptor de antígenos modificado genéticamente u otro componente de direccionamiento o señalización en la célula y producir una población de células efectoras inmunitarias modificadas, y administrar la población de células efectoras inmunitarias modificadas al mismo sujeto. En una modalidad preferida, las células efectoras inmunitarias comprenden células T.

En una modalidad, un método para tratar a un sujeto diagnosticado con un cáncer, comprende administrar uno o más vectores que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente al sujeto. En una modalidad preferida, las células efectoras inmunitarias comprenden células T.

Los métodos para administrar las composiciones celulares contempladas en modalidades particulares incluyen cualquier método que sea efectivo para resultar en la reintroducción de células efectoras inmunitarias modificadas *ex vivo* o la reintroducción de progenitoras modificadas de células efectoras inmunitarias que tras la introducción en un sujeto

se diferencian en células efectoras inmunitarias maduras. Un método comprende modificar las células T de sangre periférica *ex vivo* mediante la introducción de uno o más vectores que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y opcionalmente un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente u otro componente de direccionamiento o señalización en la célula y devolver las células transducidas al sujeto.

Los métodos para administrar las composiciones celulares contempladas en modalidades particulares incluyen cualquier método que sea efectivo para resultar en la reintroducción de células efectoras inmunitarias modificadas *ex vivo* o la reintroducción de progenitoras modificadas de células efectoras inmunitarias que tras la introducción en un sujeto se diferencian en células efectoras inmunitarias maduras. Un método comprende modificar las células T de sangre periférica *ex vivo* mediante la introducción de uno o más vectores que codifican uno o más componentes de receptor inmunitario modificado genéticamente y opcionalmente un receptor de linfocitos exógeno o un receptor de antígenos modificado genéticamente u otro componente de direccionamiento o señalización en la célula y devolver las células transducidas al sujeto.

Los métodos para administrar las composiciones de vector contempladas en modalidades particulares incluyen cualquier método que sea efectivo para dar como resultado células efectoras inmunitarias modificadas *in vivo*.

J. LISTADO DE SECUENCIAS

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
1	FRB*	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISK

2	FRB	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHA MMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMK SGNVKDLTQAWDLYYHVFRISK
3	FKBP12	GVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKF DSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQR AKLTISPDYAYGATGHHPGIIPPHATLVFDVELLKLE
4	FKBP12 F36V	GVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKV DSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQR AKLTISPDYAYGATGHHPGIIPPHATLVFDVELLKLE
5	CH3-Ab (S354C T366W)	GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
6	CH3-IA (Y349C T366S L368A Y407V)	GQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
7	CH3-DE (L351D L368E)	GQPREPQVYTDPPSRDELTKNQVSLTCEVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
8	CH3-KK (L351K T366K)	GQPREPQVYTKPPSRDELTKNQVSLKCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
9	CH3-GA (SEED 1)	GQPREPQVYTLPPPSEELALNELVTLTCLVKGFYPSD IAVEWLQGSQELPREKYLTWAPVLDSGDSFFLYSILR VAAEDWKKGDTFSCSVMHEALHNHYTQKSILDR

10	CH3-AG (SEED 2)	GQPFRPEVHLLPPSREEMTKNQWSLTCLARGFYPKD IAVEWESNGQPENNYKTTPSRQEPSQGTTTTFAVTSK LTVDKSRWQQGNWFSCSVMHEALHNHYTQKTISL
11	Enlazador 1xG4S	GGGGS
12	Enlazador 2xG4S	GGGGSGGGGS
13	Enlazador 3xG4S	GGGGSGGGGSGGGGS
14	Enlazador 4xG4S	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
15	Enlazador 5xG4S	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
16	Enlazador	DGGGS
17	Enlazador	TGEKP
18	Enlazador	GGRR
19	Enlazador	EGKSSGSGSESKVD
20	Enlazador	KESGSVSSEQLAQFRSLD
21	Enlazador	GGRRGGGS
22	Enlazador	LRQRDGERP
23	Enlazador	LRQKDGGGSERP
24	Enlazador	LRQKDGGGSGGGSERP
25	Enlazador	GSTSGSGKPGSGEGSTKG
26	Enlazador	GSTSGSGKSSEGSSTKG
27	Enlazador	GSTSGSGKSSEGGK
28	Enlazador	GSTSGSGKPGSGEGS
29	Enlazador	GGGS
30	Enlazador yuTCR (uLNK)	LEKT
31	uLNK + enlazador G4S	LEKTGGGGS

32	CD3 ϵ	DGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW QHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGY YVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSV ATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPVPNPDYEPKRGQRDLYSGLN QRRI
33	CD3 γ	QSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDG KMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNK KPLQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGV YFIAGQDGVQRASDKQTLLPNDQLYQPLKDREDD QYSHLQGNQLRRN
34	CD3 δ	EHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDVFNVCNT SITWVEGTGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDI YKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIATL LLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPL RDRDDAQYSHLGGNWARNK
35	Fc ϵ R1 γ - v1	GEPLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSYEK SDGVYTGLSTRNQETYETLKHEKPPQ
36	Fc ϵ R1 γ - v2	LGEPQLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSY EKSDGVYTGLSTRNQETYETLKHEKPPQ
37	Ig α /CD79a (BCR)	LWMHKVPASLMVSLGEDAHFQCPHNSSNNANVTW WRVLHGNYTWPPEFLGPGEDPNGTLIIQNVNKGSHGG IYVCRVQEGNESYQQSCGTYLVRQPPRPFLDMGE GTKNRIITAEGIILLFCAVVPGTLLLFRKRWQNEKLGLD

		AGDEYEDENLYEGLNLDDCSMYEDISRGLQGTYQDV GSLNIGDVQLEKP
38	Igβ/CD79b (BCR)	MARLALSPVPSHWMVALLLLSGTEPTTRPVGFALIS SCLGPAALPPACSTLLLCLSLFTACLPLMALGPGSVG VSCTW
39	DAP10	QTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCSLSLPLLAGLV AADAVASLLIVGAVFLCARPRRSPAQEDGKVYINMPG RG
40	DAP12	LRPVQAQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIA LAVYFLGRLVPRGRGAAEAATRKQRITETESPYQELQ GQRSDVYSDLNTQRPYYK
41	Bisagra CD4 mínima	SNIKVLPTWSTPVQP
42	Bisagra CD28 mínima	KGKHLCPSPLPFGPSKP
43	Bisagra IgG4	ESKYGPPCPSCP
44	Bisagra CD8	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACD
	Enlazador de bisagra	GGR
45	CD4 transmembrana	MALIVLGGVAGLLLFIGLGIFF
46	CD28 transmembrana	FWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV
47	CD8 transmembrana	AGTGSDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT
48	CD4 intracelular truncado – v1	CVRC
49	CD4 intracelular truncado – v2	CVRCRHRRRQ

50	scFv_anti-BCMA_1	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIH WYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTD FTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKG STSGSGKPGSGEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVK ISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTET REPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTA TYFCALDYSYAMDYWGQGTSTVTVSS
51	scFv_anti-BCMA_2	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIH WYQQKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTD FTLTISLQAEDAAIYYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGS TSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFTDYSINWVRQAPGQGLEWMGWINTE TREPAYAYDFRGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDT AVYYCARDYSYAMDYWGQGTSLTVTVSS
52	scFv_anti-BCMA_3	DIQMTQSPSSLSASVGDRITITCRASQDIRNYLGWYQ QKPGKAPKVLIFAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCLQDYIYPWTFAGGTKVEIKGGGG SGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCA ASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRNK NYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAREGEATYYDILTGPFDYWGQGTSLTVTVSS
53	scFv_anti-CD19	DIQMTQTTSSLSASLGDRVITISCRASQDISKYLNWYQ QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLT ISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGG SGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV

		SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYN SALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS
54	scFv_anti-CD20_1	EVQLQQSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLT ADKSSSTAYMQLSSLTSEDSADYYCARSNYYGSSYW FFDWGAGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLT QSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVNYMDWYQKKPGS SPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVE AEDAATYYCQQWSFNPPTFGGGTKLEIK
55	scFv_anti-CD20_2	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMH WVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLT ADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWY FNVWGAGTTVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGQIVLSQ SPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSP KPWIYATSNLASGVVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAE DAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKR
56	scFv_anti-CD20_3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYAFSYSWIN WVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGD TDYNGKFKGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARNVFDGYWL VYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQ TPLSLPVTGPGEPAISCRSSKSLLSHNGITYLYWYLQK PGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGKVEIKRTV

57	scFv_anti-CD22	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAW NWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRIT INPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREVTGDLED AFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVITICRASQTIWSYLNWYQQRPGKAPNLLIYAASS LQSGVPSRFSGRSGTDFLTITSSSLQAEDFATYYCQQ SYSIPQTFGQGTKLEIK
58	scFv_anti-CD33	EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSSQK NYLAWYQQIPGQSPRLLIYWASTRESGVPDRFTGSG SGTDFLTITSSVQPEDLAIYYCHQYLSSRTFGQGTKLE IKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQPGAIEVVKPGAS VKMSCKASGYTFTSYIHWIKQTPGQGLEWVGVYIP GNDDISYNQKFQGKATLTADKSSNTAYMQLSSLTSED SAVYYCAREVRLRYFDVWGQGTTVTVSS
59	scFv_anti-CD79A	DVLMTQIPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYL EWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPFTFGSGTKLEIK RGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGPELVKPGASV KISCKASGYTFSTSWMNWVKQRPQGQGLEWIGRIYPG DGDNTYNGKFKGKATLTADKSSNTAYMQLSSLTSVD SAVYFCERFYGNFAMDYWGQGTSTVTVSS
60	scFv_anti-CD79B_1	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSMHW VKQAPGEGLKWMGWINTETGEPTYADDFKGRFAFSL ETSASTAYLQINNLIKNETATYFCYYGSYWGGGTLVT VSAGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQ

		RATISCKASQSVDYDGDGYMDWYQQKPGQPPKLLIF AASNLSKSGIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATY YCQQTNEYPWTFGGGTKLEIK
61	scFv_anti-CD79B_2	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYEGDSFL NWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIK RGGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEILPG GGDTNYNEIFKGRATFSADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLVTVSS
62	scFv_anti-B7H3	DIVMTQSHKFMSTSIGARVSITCKASQDVRTAVAWYQ QKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFT ISSVQAEDLAVYYCQQHYGTPPWTFGGGTKLEIKGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLS CEASRFTFSSYAMSWVRQTPEKRLEWVAAISGGGRY TYYPDSMKGRFTISRDNANKFLYLQMSSLRSEDAM YYCARHYDGYLDYWGQGTTLTVSSTR
63	scFv_anti-Muc16	VKLQESGGGFVKPGGSLKVSCAASGFTFSSYAMSW VRLSPEMRLEWVATISSAGGYIFYSDSVQGRFTISRD NAKNTLHLQMGSLSRSGDTAMYYCARQGFGNYGDYY AMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIEL TQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLSRTRKNQLA WYQQKPGQSPPELLIYWASTRQSGVPDRFTGSGSGT DFTLTISVQAEDLAVYYCQQSYNLLTFGPGTKLEVK R

64	scFv_anti-HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWY QQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGKVEIKGST SGSGKPGSGEGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTR YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC SRWGGDGFYAMDVWGQGTLLTVSS
65	scFv_anti-EGFR	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQ RTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSIN SVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKGGGGS GGGGSGGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVS GFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYN TPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCAR ALTYDYEFAYWGQGTLLTVSS
66	scFv_anti-FN-EDB	EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMSW VRQAPGKGLEWVSSISGSSGTTYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPFYFDYWGQ GTLTVSSGDGSSGGSGGASEIVLTQSPGTLSSLSPG ERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYYA SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQTGRIPPTFGQGKVEIK
67	scFv_anti-CLDN18.2	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNW VKQAPGKGLKWMGWINTNTGEPTYAEEFKGRFAFSL ETSASTAYLQINNLIKNE DTATYFCARLGFGNAMDYW GQGTSTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPS

		SLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQK PGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLELK
68	scFv_anti-DLL3	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSYYWTWI RQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPNPSLKSRVTISVDTS KSQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIIVRGFFFDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSL SPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYGTSPLTFGGGTKVEIK
69	scFv_anti-FLT3_1	QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLINARMGVS WIRQPPGKALEWLAHIFSNAEKSYRTSLKSRLTISKDT SKSQVVLTMTNMDPVDATYYCARIPGYGGNGDYHY YGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQK PGKAPKRLIYASSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTSS LQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQGGTKVEIK
70	scFv_anti-FLT3_2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCANLAPWAAYW GQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLS LPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDVGVYYCMQALQTPHTFGQGGTKLEIK

71	scFv anti-ROR1	DIQMTQSPSFLSASVGDRV TINCKASQNIDRYLNWYQ QKLGEAPKRLLYNTNKLQTGIPSRFSGSGSATDFTLTI SSLQPEDFATYFCLQYNSLPLTFGSGTKLEIKGGGGS GGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLKLSAAS GFIFSEHNMAWVRQAPKKGLEWVATISDDGRNTYYR DSMRGRFTISRENARSTLYLQLDSL RSED TATYYCAS HRYNLFDSWGQGVMVTVSS
72	VHH_anti-CD33_1	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTLVTVKP
73	VHH_anti-CD33_2	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGRTFSGYIMG WFRQAPGKERELVARISGNNLSTEYAESVKGRFTISR DNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAA EYDYSSGDFV YWGQGTLVTVKP
74	VHH_anti-CD33_3	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSTLNIDHIGW YRQAPGKERELGVISSGAGPNYAESVKGRFTISR NAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAWIDYGSGLPQN YWGQGTLVTVKP
75	VHH_anti-CLL1_1	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNW YRQAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISR DNAKNTIYLQMSSLRAEDTAVYYCHADLT KAYDVEYA WGQGTLVTVKP
76	VHH_anti-CLL1_2	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGLLFSIYDMNW YRQAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISR

		DNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCHTDEWGREYWG QGT LVT VKP
77	VHH_anti-CD123_1	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCTASGRAINMYAMG WFRQAPGKERE FVAAINWNGAYTQYAESVKGRFTIS RDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCSADADYNTYVS PNKRVS YWGQGT LVT VKP
78	VHH_anti-CD123_2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGRAINAYNMG WFRQAPGKGREFVSAINWNAARTYYAESVKGRFTIS RDNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAASGRWSAAVP SGEDQYNFWGQGT LVT VKP
79	VHH_anti-CD20	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLS CAASGR TFSNYNMG WFRQAPGKERE FVAAIDWSGGSPYYAASVRGRFTIS RDNAENTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAPLSYGSTWL ADYWGQGTQVT VSS
80	VHH_anti-EGFR	QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGR T SRSYGMG WFRQAPGKERE FVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTIS RDNAKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAGSAWYGT LYEYDYWGQGTQVT VSS
81	VHH_anti-BCMA_1	QVKLEESGGGLVQAGRSLRLS CAASEHTFSSHVMG WFRQAPGKERESVAVIGWRDISTSYADSVKGRFTISR DNAKKTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAARRIDAADFDS WGQGTQVT VSS
82	VHH_anti-BCMA_2	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASGR TFTMGWFR QAPGKERE FVAAISL SPTLAYYAESVKGRFTISR DNA

		KNTVVLQMNSLKPEDTALYYCAADRKSVMSIRPDYW GQGTQVTVSS
83	VHH_anti-CD19	QVKLEESGGELVQPGGPLRLSCAASGNIFSINRMGW YRQAPGKQRAFVASITVRGITNYADSVKGRFTISVDK SKNTIYLQMNALKPEDTAVYYCNAVSSNRDPDYWGQ GTQVTVSS
84	Ectodominio de PD1	NPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESVLNWYR MSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDSRFRVTQLPNGR DFHMSVVRARRNDSGTLYCGAISLAPKAQIKESLRAE LRVTE
85	Ectodominio de alta afinidad de PD1	NPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESVLNWYR MSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDSRFRVTQLPNGR DFHMSVVRARRNDSGTLYCGAISLAPKVQIKESLRAE LRVTE
86	Ligando inductor de la proliferación A humano (APRIL)	SVLHLVPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGRGLQAA GYGVRIQDAGVYLLYSQVLFQDVTFTMGQVVSREGQ GRQETLFR CIRSMPSHPDRAYNSCYSAGVFHLHQGD ILSVIIPRARA KLNLSPHGTFLGFVKL
87	APRIL humano trimerizado	SVLHLVPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGRGLQAA GYGVRIQDAGVYLLYSQVLFQDVTFTMGQVVSREGQ GRQETLFR CIRSMPSHPDRAYNSCYSAGVFHLHQGD ILSVIIPRARA KLNLSPHGTFLGFVKLGGGGSGGGGS GGGGSSVLHLVPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGR GLQAQGYGVRIQDAGVYLLYSQVLFQDVTFTMGQVV SREGQGRQETLFR CIRSMPSHPDRAYNSCYSAGVFH

		LHQGDILSVIIPRARAKLNLSPHGTFLGFVKLGGGGSG GGGSGGGGSSVLHLVPINATSKDDSDVTEVMWQPA LRRGRGLQAQGYGVRIQDAGVYLLYSQVLFQDVTFT MGQVVSREGQGRQETLFRCSMPSHPDRAVNSCY SAGVFHLHQGDILSVIIPRARAKLNLSPHGTFLGFVKL
88	Proteína de membrana de NKG2D	FNQEVQIPLTESYCGPCPNWICYKNNCYQFFDESK NWYESQASCMSQNASLLKVYSKEDQDLLKLVKSYH WMGLVHIPTNGSWQWEDGSILSPNLLTIEMQKGDCA LYASSFKGYIENCSTPNTYICMQRTV
89	CDR1 de VHH_anti- CD33_1	RSSGIDVMG
90	CDR2 de VHH_anti- CD33_1	EISGVGDTN
91	CDR3 de VHH_anti- CD33_1	HSFLDLVGA
92	CDR1 de VHH_anti- CLL1_1	GFLFSIYDMN
93	CDR2 de VHH_anti- CLL1_1	GITNNGYSTA
94	CDR3 de VHH_anti- CLL1_1	DLTKAYDVEYA
95	Secuencia señal de IgK	ETPAQLLFLLLLWLPDTTG
96	Secuencia señal de CD8	ALPVTALLLPLALLLHAARP
97	Secuencia señal de PD1	QIPQAPWPVWAVLQLGWRPGW

98	Dominio de señalización intracelular de 41BB	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCEL
99	Dominio de señalización intracelular de CD28	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRS
100	Dominio del correceptor de CD4	CVRCRHRRRQAERMSQIKRLLSEKKTCCPHRFQKT CSPI
101	Dominio del correceptor de CD8	LYCNHRNRRRVCKCPRPVVKSGDKPSLSARYV
102	Dominio de LAT	HCHRLPGSYDSTSSDSLYPRGIQFKRPHTVAPWPPA YPPVTSYPPLSQPDLLPIRSPQPLGGSHRTPSSRRD SDGANSVASIYENEGASGIRGAQAGWGVWGPSWTR LTPVSLPPEPACEDADEDEDDYHNPGYLVVLPDSTP ATSTAAPSAPALSTPGIRDSAFSMESIDDYVNVPESE ESAEASLDGSREYVNVSQELHPGAAKTEPAALSSQE AEEVEEEGAPDYENLQELN
103	Dominio de señalización del receptor alfa de IL7	KKRIKPIVWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKNLNVSFNPE SFLDCQIHRVDDIQARDEVEGFLQDTFPQQLEESEKQ RLGGDVQSPNCPSDEVVITPESFGRDSSLTCLAGNV SACDAPILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLSLGTT NSTLPPPFSLQSGILTLNPVAQGQPILTSLSGNQEEAY VTMSSFYQNNQ
104	Dominio de señalización del receptor beta de IL2, truncado	NCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDV QKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLL

105	Dominio de señalización del receptor beta de IL2	NCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDV QKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLL LQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALE IEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQP LSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGG SGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPPLGPPTPGVPDL VDFQPPPELVLREAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPP GQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV
106	Dominio de señalización de cadena gamma común	ERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAE SLQPDYSERLCLVSEIPPCKGGALGEGPGASPCNQHS PYWAPPCYTLKPET
107	FRB.3xG4S.CD3e	WHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSG NVKDLTQAWDLYYHVFRISKGGGGSGGGGSGGGG SDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW QHNDKNIGGEDDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGY YVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSV ATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPVPNPDYEPKRGQRDLYSGLN QRR
108	FRB.3xG4S.CD3g	WHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSG NVKDLTQAWDLYYHVFRISKGGGGSGGGGSGGGG SQQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKD GKMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNK

		SKPLQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVG VYFIAGQDGVQRQSRASDKQTLLPNDQLYQPLKDRED DQYSHLQGNQLRRN
109	FKBP12.G4S.CD3e	QVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDS SRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAK LTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEGGGG SDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW QHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGY YVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSV ATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPPVNPDPYEPKRGQRDLYSGLN QRR
110	FRB.G4S.CD3e	WHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSG NVKDLTQAWDLYYHVFRISKGGGGSDGNEEMGGIT QTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDE DDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPE DANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGL LLLVEYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKER PPPVNPDPYEPKRGQRDLYSGLNQRR
111	FRBstar.3xG4S.CD3e	WHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSG NVKDLLQAWDLYYHVFRISKGGGGSGGGGSGGGG SDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW QHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGY

		YVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDMVMSV ATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPVPNPDIYEPIRKGQRDLYSGLN QRR
112	IACH3.3xG4S.CD3e	GQPREPQVCTLPSPDELTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKG GGSGGGGGSGGGSDGNEEMGGITQTPYKVSISGT TVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDED HLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRA RVCENCMEMDMVMSVATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKN RKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPVPNPDIYE PIRKGQRDLYSGLNQRR
113	CH3AG.3xG4S.CD3e	GQPFREPVHLLPSPREEMTKNQWSLTCLARGFYPKD IAVEWESNGQPENNYKTPSRQEPSQGTTFVAVTSK LTVDKSRWQQGNWFSCSVMHEALHNHYTQKTISLG GGSGGGGGSGGGSDGNEEMGGITQTPYKVSISGT TVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDED HLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRA RVCENCMEMDMVMSVATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKN RKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPVPNPDIYE PIRKGQRDLYSGLNQRR
114	CH3DE.3xG4S.CD3e	GQPREPQVYTDPPSPDELTKNQVSLTCEVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKG

		GGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQTPYKVSISGT TVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGEDDDKNIGSDED HLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRA RVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKN RKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPVPNPDIYE PIRKGQRDLVSGLNQRR
115	FRBstar.2xG4S.FCER1 G	WHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSG NVKDLLQAWDLYYHVFRRISKGGGGSGGGSGEPL CYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQRKAAITSYEKSDGV YTGLSTRNQETYETLKHEKPPQ
116	antiCD33.G4S.FKBP.min CD28hinge.CD28tm.CD4 ic	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTC VVHYTGMLLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLEKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVCVRCRHRRRQ
117	antiCD33.G4S.FKBP.min CD4hinge.CD4tm.CD4ic	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTC VVHYTGMLLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH

		ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
118	antiCD33.G4S.FKBP.GG R.CD4tm.CD4ic	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYLMQSSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTTLTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTPKRGQTC VVHYTGMLDGGKKFDSSDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLEGGMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFC VRCRHRRRQ
119	FRB.2xG4S.antiCD33.mi nCD4hinge.CD4tm.CD4i c	WHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSG NVKDLTQAWDLYYHVFRISKGGGGSGGGGSEVQL VESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYRQA PGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNAKNT VYLMQSSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQGTTLV TVKPSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLLFIGLGI FFCVRCRHRRRQ
120	FKBP.2xG4S.antiCD33. minCD4hinge.CD4tm.CD 4ic	GVQVETISPGDGRTPKRGQTCVVHYTGMLDGGKKF DSSDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQR AKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEGG GGSGGGGSEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRS SGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLA DRFTVSRDNAKNTVYLMQSSSLRAEDTAVYYCNAHSF

		LDLVGAWGQGT LVT VKPSNIKVLPTWSTPVQPMALIV LGGVAGLLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
121	antiCLL1.G4S.FKBP.min CD4hinge.CD4tm.CD4ic	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNW YRQAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISR DNAKNTIY LQMSSLRAEDTAVYYCHADLT KAYDVEYA WGQGT LVT VKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRG QTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRD RNKPFK FMLGKQE VIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGII PPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLG GVAGLLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
122	antiCLL1.G4S.antiCD33. G4S.FKBP.minCD4hinge .CD4tm.CD4ic	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNW YRQAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISR DNAKNTIY LQMSSLRAEDTAVYYCHADLT KAYDVEYA WGQGT LVT VKPGGGGSEVQLVESGGGEVQPGGSL RLSCAASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVG DTNYAASLADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTA VYYCNAHSFLDLVGAWGQGT LVT VKPGGGGSGVQV ETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSR DRNKPFK FMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLT I SPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPT WSTPVQPMALIVLGGVAGLLLLFIGLGIFFCVRCRHRR RQ
123	FRB.2xG4S.antiCLL1.mi nCD4hinge.CD4tm.CD4i c	WHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSG NVKDLTQAWDLYYHVFRISKGGGGSGGGGSEVQL

		VESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNWYRQ APGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISR DNAKNTIYLMSSSLRAEDTAVYYCHADLT KAYDVEYAWGQGT LVTVKPSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLL LFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
124	antiCLL1.G4S.FRB.2xG 4S.antiCD33.minCD4hin ge.CD4tm.CD4ic	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNW YRQAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISR DNAKNTIYLMSSSLRAEDTAVYYCHADLT KAYDVEYAWGQGT LVTVKPGGGGSLWHEMWHEGLEEASRLYF GERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETS SFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLT QAWDLYYHVFR RISKGGGGSGGGGSEVQLVESGGGEVQPGGSLRLS CAASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGV GDTN YAASLADRFTVSRDNAKNTVYLMSSSLRAEDTAVYY CNAHSFLDLVGAWGQGT LVTVKPSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLL LFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
125	antiCD33.G4S.FKBP.min CD4hinge.CD4tm.CD28	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTN YAASLADRFTVSRDNAKNTVYLMSSSLRAEDTAVYYC NAHSFLDLVGAWGQGT LVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTC VVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFM LGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISP DYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGV AGLL LFIGLGIFFCVRCR SKRSRLLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

126	antiCD33.G4S.FKBP.min CD4hinge.CD4tm.41BB	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYLMQSSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTPFKRGQTC VVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFCVRCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
127	antiCD33.G4S.AbCH3.m inCD4hinge.CD4tm.CD4i c	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYLMQSSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTLVTVKPGGGGSGQPREPQVYTLPPCRDELTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGG VAGLLLFIGLGIFFCVRCHRRRQ
128	antiCD33.G4S.CH3GA. minCD4hinge.CD4tm.CD 4ic	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYLMQSSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTLVTVKPGGGGSGQPREPQVYTLPPPSEELALNE LVTLTCLVKGFYPSDIAVEWLQGSQELPREKYLTWAP VLDSGDGSFFLYSILRVAAEDWKKGDTFSCSVMHEAL HNHYTQKSLDRSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAG LLLFIGLGIFFCVRCHRRRQ

129	antiCD33.G4S.CH3KK.m inCD4hinge.CD4tm.CD4i c	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYVLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTTLVTVKPGGGGSGQPREPQVYTKPPSRDELTKN QVSLKCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGG VAGLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
130	antiCD33.G4S.FKBP.min CD4hinge.CD4tm.CD4ic- full	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYVLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTC VVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQAERMSQIKRLLSEKKT CQCPhRFQKTCSPi
131	antiCD33.G4S.FKBP.min CD4hinge.CD4tm.CD8ic- full	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYVLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTC VVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA

		GLLLFIGLGIFFLYCNHRNRRRVCKCPRPVVKSGDKP SLSARYV
132	CD19scFv.G4S.FKBP.minCD4hinge.CD4tm.CD4ic	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQ QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLT ISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGG SGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWIGSETTYYN SALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGVQVETIS PGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLLEDGKKFDSSDRN KPFKFMLGKQEVIKRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPD YAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWS TPVQPMALIVLGGVAGLLLFILGLGIFFCVRCHRRRQ
133	PD1(A132V)ex.G4S.FKB P.minCD4hinge.CD4tm. CD4ic	FLDSPDRPWNPPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTS ESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRF RVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTLYCGAISLAPK VQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQT LVGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTG MLEDGKKFDSSDRNKPFFKFMLGKQEVIKRGWEEGV AQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFD VELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLLFI GLGIFFCVRCHRRRQ
134	PD1ex.G4S.FKBP.minCD4hinge.CD4tm.CD4ic	FLDSPDRPWNPPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTS ESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRF RVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTLYCGAISLAPK

		AQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQT LVGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTG MLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGV AQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFD VELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLFI GLGIFFCVRCRHRRRQ
135	antiCD33.G4S.FKBP.CD 4htm.trIL2Rb	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGW YRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRD NAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWG QGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTC VVHYTG MLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFNCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQ LSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEVL ERDKVTQLLPLNTDAYLSLQELQGQDPHTLV
136	antiROR1.G4S.FKBP.mi nCD4hinge.CD4tm.CD4i c	DIQMTQSPSFLSASVGDRV TINCKASQNIDRYLNWYQ QKLGEAPKRLLYNTNKLQTGIPSRFSGSGSATDFTLTI SSLQPEDFATYFCLQYNSLPLTFGSGTKLEIKGGGGS GGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAAS GFIFSEHNMAWVRQAPKKGLEWVATISDDGRNTYYR DSMRGRFTISRENARSTLYLQLDSLRS EDTATYYCAS HRYNLFDSWGQGVMVTVSSGGGGSGVQVETISPGD GRTFPKRGQTCVVHYTG MLEDGKKFDSSRDRNKPF KFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAY

		GATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPV QPMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
137	FRBstar.CD4htm.IL7Ra	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHA MMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMK SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKSNIKVLPTWSTPVQ PMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFKKRIKPIVWPSLPDHK KTLEHLCKKPRKNLNVSFNPESFLDCQIHRVDDIQAR DEVEGFLQDTFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSE DVVITPESFGRDSSLTCLAGNV/SACDAPILSSSRSLD CRESGKNGPHVYQDLLLLSLGTTNSTLPPFSLQSGIL TLNPVAQQQPILTSLGSNQEEAYVTMSSFYQNNQ
138	FRBstar.CD4htm.IL2Rg	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHA MMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMK SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKSNIKVLPTWSTPVQ PMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFERTMPRIPTLKNLEDL VTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEI PPKGGALGEGPGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPET
139	SR020 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.I gKss.antiCD33.FKBP.mi nCD28hinge.CD28tm.CD 4ic	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP

		PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEV QLVESGGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA KNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCV VHYTG MLEDGKKFDSSRDRNKPFK FMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLEKGKHLCP SPLFPGPSKPFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVCVRCRHRRRQ
140	SR021 - CD8ss.FRB.CD3g.P2A.I gKss.antiCD33.FKBP.mi nCD28hinge.CD28tm.CD 4ic	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSQSIKGNHLVKVY DYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGKMIGFLTEDKKK WNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMCQ NCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQDGV RQ SRASDKQTLLPNDQLYQPLKDREDDQYSHLQGNQLR RNSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETPAQLLF LLLWLPD TTGEVQLVESGGGGEVQPGGSLRLSCAASR SSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASL ADRFTVSRDNAKNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCNAHS FLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDG RTFPKRGQTCVVHYTG MLEDGKKFDSSRDRNKPFKF MLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGA

		TGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEKGKHLCPSPFLPGPS KPFWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVCVRCRHRR RQ
141	SR022 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.I gKss.antiCD33.FKBP.mi nCD4hinge.CD4tm.CD4i c	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLWLPD TTGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA KNTVYLMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCV VHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
142	SR023 - CD8ss.FRB.CD3g.P2A.I gKss.antiCD33.FKBP.mi	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGSGGGGSQSIKGNHLVKVY

	nCD4hinge.CD4tm.CD4ic	DYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGKMIGFLTEDKKK WNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMCQ NCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQDGVRRQ SRASDKQTLLPNDQLYQPLKDREDDQYSHLQGNQLR RNSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFL LLLWLPDTTGEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASR SSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASL ADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHS FLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDG RTFPKRGGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDNRNPKPKF MLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGA TGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQP MALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRRCRHRRRQ
143	SR024 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.I gKss.antiCD33.FKBP.C D4tm.CD4ic	ALPVTALLLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDIYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDTTGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA

		KNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCV VHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLEGGRMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFC VRCRHRRRQ
144	SR026 - CD8ss.FKBP.CD3e.P2A. IgKss.FRB.antiCD33.min CD4hinge.CD4tm.CD4ic	ALPVTALLPLALLHAARPGSGVQVETISPGDGRTFP KRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKMLG KQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGH PGIIPPHATLVFDVELLKLEGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGLW HEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMM ERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGN VKDLTQAWDLYYHVFRISKGGGGSGGGGSEVQLV ESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYRQAP GKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNAKNTV YLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQGTLVT VKPSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLLFIGLGIF FCVRCRHRRRQ

145	SR028 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.I gKss.FKBP.antiCD33.mi nCD4hinge.CD4tm.CD4i c	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSLWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVI LTC PQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLS LKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVC ENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLL VYYWSKNRKA KAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVNPDYEPIR KGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSLLKQAGDVEENP GPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGGVQVETISPGDGRT FPKRGQTCVVHYTG MLEDGKKFDSSRDRNKPFKFML GKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATG HPGIIPPHATLVFDVELLKLEGGGGSGGGGSEVQLVE SGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYRQAPG KERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNAKNTVY LQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQGTLVTV KPSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFF CVRCRHRRRQ
146	SR001 - CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.IgKss.antiCD33.FKB P.minCD4hinge.CD4tm. CD4ic	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTC PQYPGSEILWQHNDKNIGGDED KNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL

		LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVNPNDYEPiRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEV QLVESGGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA KNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCV VHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFCVR CRHRRRQ
147	SR003 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.I gKss.antiCLL1.FKBP.mi nCD4hinge.CD4tm.CD4i c	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVNPNDYEPiRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEV QLVESGGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNWYR QAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISRDN AKNTIYLQMSSLRAEDTAVYYCHADLT KAYDVEYAW GQGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQ

		TCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVI RGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIP PHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGG VAGLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
148	SR004 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.I gKss.antiCLL1.antiCD33 .FKBP.minCD4hinge.CD 4tm.CD4ic	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDIYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDITGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNWYR QAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISRDN AKNTIYLMSSLRAEDTAVYYCHADLTAKYDVEYAW GQGTLVTVKPGGGGSEVQLVESGGGEVQPGGSLRL SCAASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDT NYAASLADRFTVSRDNAKNTVYLMSSLRAEDTAVY YCNHSFLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGGSGVQVETI SPGDGRFTPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDR NKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISP DYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTW STPVQPMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ

149	SR005 - CD8ss.FKBP.CD3e.P2A. IgKss.FRB.antiCLL1.min CD4hinge.CD4tm.CD4ic	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSGVQVETISPGDGRTFP KRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLG KQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGH PGIIPPHATLVFDVELLKLEGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVNPDPYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDTTGLW HEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMM ERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSGN VKDLTQAWDLYYHVFRISKGGGGSGGGGSEVQLV ESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNWYRQA PGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISRDNK NTIYLQMSSLRAEDTAVYYCHADLTAKYDVEYAWGQ GTLVTVKPSNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLLF IGLGIFFCVRCRHRRRQ
150	SR006 - CD8ss.FKBP.CD3e.P2A. IgKss.antiCLL1.FRB. antiCD33.minCD4hinge. CD4tm.CD4ic	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSGVQVETISPGDGRTFP KRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLG KQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGH PGIIPPHATLVFDVELLKLEGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL

		LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDTTGEV QLVESGGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNWYR QAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISRDN AKNTIYLQMSSLRAEDTAVYYCHADLTAKAYDVEYAW GQGTLVTVKPGGGGSLWHEMWHEGLEEASRLYFGE RNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGR DLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRR SKGGGGSGGGGSEVQLVESGGGGEVQPGGSLRLSC AASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNY AASLADRFTVSRDNAKNTVYLMSSLRAEDTAVYYC NAHSFLDLVGAWGQGTLVTVKPSNIKVLPTWSTPVQ PMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
151	SR008 - CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.IgKss.antiCLL1. antiCD33.FKBP.minCD4 hinge.CD4tm.CD4ic	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDTTGEV QLVESGGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNWYR

		QAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISRDN AKNTIYLQMSSLRAEDTAVYYCHADLTAKAYDVEYAW GQGTLVTVKPGGGGSEVQLVESGGGEVQPGGSLRL SCAASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDT NYAASLADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVY YCNHSFLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGGSGVQVETI SPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDR NKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKL TISP DYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTW STPVQPMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
152	SR030 - CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.IgKss.antiCLL1. antiCD33.FKBP.minCD4 hinge.CD4tm.41BB	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNWYR QAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISRDN AKNTIYLQMSSLRAEDTAVYYCHADLTAKAYDVEYAW GQGTLVTVKPGGGGSEVQLVESGGGEVQPGGSLRL SCAASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDT

		NYAASLADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVY YCNAHSFLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGSGVQVETI SPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDR NKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISP DYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTW STPVQPMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
153	SR001-28 – CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.IgKss.antiCD33.FKB P.minCD4hinge.CD4tm. CD28	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDTTGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA KNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGSGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCV VHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA

		GLLLFIGLGIFFCVRCSRKRSRLLHSDYMNMTPRRPG PTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
154	SR001-41BB – CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.IgKss.antiCD33.FKB P.minCD4hinge.CD4tm.4 1BB	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDIYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEV QLVESGGGEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRS SGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLA DRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSF LDLVGAWGQGT LVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGR TFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKP FKF MLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGA TGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQP MALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCKRGRKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL
155	SR292 - CD8ss.IACH3.CD3e.P2A .IgKss.antiCD33.AbCH3.	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSGQPREPQVCTLP PSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGSSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGG

	minCD4hinge.CD4tm.41 BB	SDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW QHNDKNIGGEDDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGY YVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSV ATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPVPNPDIYPIRKGQRDLYSGLN QRRISGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETPAQLL FLLLLWLPDITTEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAA SRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAA SLADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNA HSFLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGGSGQPREPQVYT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSNIKVLPTWSTP VQPMALIVLGGVAGLLLLFIGLGIFFCVRCHRRRRQ
156	SR293 - CD8ss.CH3AG.CD3e.P2 A.IgKss.antiCD33.CH3G A.minCD4hinge.CD4tm. CD4ic	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSGQPFRPEVHLLPPSR EEMTKNQWSLTCLARGFYPKDIAVEWESNGQPENN YKTTPSRQEPSQGTTFVAVTSKLTVDKSRWQQGNW FSCSVMHEALHNHYTQKTISLGGGGSGGGGSGGGG SDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW QHNDKNIGGEDDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGY YVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSV ATIVIVDITGGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPVPNPDIYPIRKGQRDLYSGLN QRRISGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETPAQLL FLLLLWLPDITTEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAA

		SRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAA SLADRFTVSRDNAKNTVYLMSSSLRAEDTAVYYCNA HSFLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGGSGQPREPQVYT LPPPSEELALNELVTLTCLVKGFYPSDIAVEWLQGSQ ELPREKYLTWAPVLDSGSSFFLYSILRVAAEDWKKGD TFSCSVMHEALHNHYTQKSLDRSNIKVLPTWSTPVQ PMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHHRRRQ
157	SR296 - CD8ss.CH3DE.CD3e.P2 A.IgKss.antiCD33.CH3K K.minCD4hinge.CD4tm. CD4ic	ALPVTALLLPLALLHAARPGSGQPREPQVYTDPPSR DELTKNQVSLTCEVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGG SDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW QHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGY YVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSV ATIVVDICITGLLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPPVNPDIYPIRKQQRDLYSGLN QRRISGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETPAQLL FLLLWLPTDTTGEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAA SRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAA SLADRFTVSRDNAKNTVYLMSSSLRAEDTAVYYCNA HSFLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGGSGQPREPQVYT KPPSRDELTKNQVSLKCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSNIKVLPTWSTP VQPMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHHRRRQ

158	SR001-CD4 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.h ulgKss.CD33.FKBP.min CD4hinge.CD4tm.CD4ic- full	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDIYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDITGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA KNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGSGVQVETISPGDGRTPKRGQTCV VHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFCVRCHRRRQAERMSQIKRLLSEKKT CQCPHRFQKTCSPI
159	SR001-CD8 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.h ulgKss.antiCD33.FKBP. minCD4hinge.CD4tm.CD 8ic-full	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED

		ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDIYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA KNTVYLMQSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTPKRGQTCV VHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFLYCNHRNRRRVCKCPRPVKSGDKP SLSARYV
160	TCR-SR001 - TCR.T2A.SR001	GFRLLCCVAFCLLGAGPVDSGVTQTPKHLITATGQRV TLRCSPRSGDLSVYWYQQSLDQGLQFLIQYYNGEER AKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDSALYFCA SSGGDGDEQFFGPGTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEP SKAEIAHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWWNGKEV HSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQ NPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVQTQIVSAE AWGRADCGITSASYHQGVLSATILYEILLGKATLYAVL VSALVLMAMVKRKDSRGRAKRGSGATNFSLLKQAG DVEENPGPMSLSSLLKVVTASLWLGPQIAQKITQTQP GMFVQEKEAVTLDCTYDTSDPSYGLFWYKQPSSGE MIFLIYQGSYDQQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISA

		SQLGDSAMYFCAMSGGYTGGFKTIFGAGTRLFVKANI QNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSK DSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAFAWSNKSDFACA NAFNNSIIPEDTFFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLNF QNLLVIVLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSSGSGEGRGS LTCGDVEENPGPMALPVTALLPLALLHAARPGSIL WHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSG NVKDLLQAWDLYYHVFRISKGGGGSGGGSGGGG SDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW QHNDKNIGGEDDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGY YVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSV ATIVVDICITGGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPPPVNPDPYEPIRKGQRDLYSGLN QRRISGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETPAQLL FLLLLWLPD TTGEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAA SRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAA SLADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNA HSFLDLVGAWGQGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGD GRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKP KFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAY GATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPV QPMALIVLGGVAGLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
161	SR007 - CD8ss.FRBstar.CD3e.P	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN

	2A.hulgKss.antiCLL1.FK BP.minCD4hinge.CD4tm .CD4ic	QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDTTGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGFLFSIYDMNWYR QAPGKEREWVAGITNNGYSTAYAESVKGRFTISRDN AKNTIYLMSSLRAEDTAVYYCHADLTAKAYDVEYAW GQGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQ TCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDNRNPKFKFMLGKQEVI RGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIP PHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGG VAGLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
162	SR10168 - CD8ss.FRBstar- CD3e.P2A.IgKss.CD19s cFv.FKBP.minCD4hinge. CD4tm.CD4ic	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL

		LQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPDTTGDIQ MTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYNWYQQKP DGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNL EQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGG GGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV SLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWGETTYNSAL KSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYY GGSYAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGVQVETISPGD GRTFPRKGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKP KFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAY GATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPV QPMALIVLGGVAGLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
163	SR001+IL7a - CD8ss.FRBstar.CD3eP2 A.hulgKss.FRBstar.CD4 htm.IL7Ra.P2A.hulgKss. antiCD33.FKBP.minCD4 hinge.CD4tm.CD4ic	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGSGGGSGDNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVNPDPYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LQAGDVEENPGPMETPAQLLFLLLLWLPDTTGSILW HEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMM ERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSGN VKDLLQAWDLYYHVFRRISKSNIKVLPTWSTPVQPMA

		LIVLGGVAGLLLFIGLGIFFKKRIKPIVWPSLPDHKKTLE HLCKKPRKNLNVSFNPESFLDCQIHRVDDIQARDEVE GFLQDTFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVVIT PESFGRDSSLTCLAGNVSACDAPILSSSRSLDCRESG KNGPHVYQDLLLLSLGTTNSTLPPFSLQSGILTLPVA QGQPILTSLSNQEEAYVTMSSFYQNSGSGATNFS LLKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEV QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA KNTVYLMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTPKRGQTCV VHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFK FMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFCVR CRHRRRQ
164	SR001+gC - CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.hulgKss.FRBstar.CD 4htm.IL2Rg.P2A.hulgKs s.antiCD33.FKBP.CD4ht m.CD4ic	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPMETPAQLLFLLLLWLPD TTGSILW

		HEMWHEGLEEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMM ERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSGN VKDLLQAWDLYYHVFRRISKSNIKVLPTWSTPVQPM LIVLGGVAGLLLFIGLGIFFERTMPRIPTLKNLEDLVTE YHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPK GGALGEGPGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPETSGSG ATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVM GWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVS RDNAKNTVYLMSSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGA WGQGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRG QTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFMLGKQE VIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGII PPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLG GVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
165	SR001+IL2Rb - CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.hulgKss.antiCD33.FK BP.CD4htm.trIL2Rb	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEV

		QLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYR QAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNA KNTVYLMQSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGAWGQ GTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCV VHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPH ATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVA GLLLFIGLGIFFNCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQ LSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEVL ERDKVTQLLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV
166	SR001+IL2Rb+gC - CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.hulgKss.FRBstar.CD 4htm.IL2Rg.P2A.hulgKs s.antiCD33.FKBP.CD4ht m.trIL2Rb	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPMETPAQLLFLLLLWLPD TTGSILW HEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMM ERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSGN VKDLLQAWDLYYHVFRRISKSNIKVLPTWSTPVQMA LIVLGGVAGLLLLFIGLGIFFERTMPRIPTLKNLEDLVTE YHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPK

		GGALGEGPGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPETSGSG ATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGEVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVM GWYRQAPGKERELVAEISGVGDTNYAASLADRFTVS RDNAKNTVYLMSSLRAEDTAVYYCNAHSFLDLVGA WGQGTLVTVKPGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRG QTCVVHYTGMLLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQE VIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGII PPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLG GVAGLLLFIGLGIFFNCRNTGPWLKKVLKCNTDPDSK FFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEIS PLEVLERDKVTQLLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV
167	SR300 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.P D1ss.PD1(A132V)ex.FK BP.minCD4hinge.CD4tm .CD4ic	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMQIPQAPWPVWVAVLQLGWRP GWFLDSPDRPWNPTTFSPALLVTEGDNATFTCSFS NTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQD CRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTLYLCAISL

		APKVQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQ FQTLVGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHY TGMLLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEE GVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLV FDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLL FIGLGIFFCVRCRHRRRQ
168	SR301 - CD8ss.FRB.CD3e.P2A.P D1ss.PD1ex.FKBP.minC D4hinge.CD4tm.CD4ic	ALPVTALLPLALLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMQIPQAPWPVWAVLQLGWRP GWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVTEGDNATFTCSFS NTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQD CRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSTYLCGAISL APKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQ FQTLVGGGGSGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHY TGMLLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEE GVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLV FDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQPMALIVLGGVAGLLL FIGLGIFFCVRCRHRRRQ

169	SR354 - CD8ss.FRBstar.FCER1 G.P2A.hulgKss.antiCD3 3.FKBP.CD4tm.CD4ic	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGEPLCYILDAILYGIVLT LLYCRLKIQVRKAAITSYEKSDGVYTGLSTRNQETYET LKHEKPPQSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPSMETP AQLLFLLLLWLPD TTGEVQLVESGGGEVQPGGSLRL SCAASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVAEISGVGDT NYAASLADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVY YCNHSFLDLVGAWGQGT LVTVKPGGGGSGVQVETI SPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDR NKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKL TISP DYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTW STPVQPMALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVR CRHRRRQ
170	SR303 - CD8ss.FRBstar.CD3e.P 2A.hulgKss.antiROR1.F KBP.minCD4hinge.CD4t m.CD4ic	ALPVTALLLPLALLLHAARPGSILWHEMWHEGLEEAS RLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKGGGGSGGGGSGGGGSDGNEEMGGITQT PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDED DKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPED ANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGGLL LLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEPIRKQQRDLYSGLNQRRISGSGATNFSL LKQAGDVEENPGPSMETPAQLLFLLLLWLPD TTGDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTINCKASQNIDRYLNWYQQK

		LGEAPKRLLYNTNKLQTGIPSRFSGSGSATDFTLTISS LQPEDFATYFCLQYNSLPLTFGSGTKLEIKGGGGSGG GGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFI FSEHNMAWVRQAPKKGLEWVATISDDGRNTYYRDS MRGRFTISRENARSTLYLQLDSLRS EDTATYYCASHR YNLFDSWGQGVMVTVSSGGGGSGVQVETISPGDGR TFPKRGQTCVVHYTG MLEDGKKFDSSRDRNKP FKF MLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGA TGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESNIKVLPTWSTPVQP MALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRQ
--	--	--

Todas las publicaciones, solicitudes de patentes y patentes emitidas citadas en esta descripción se incorporan en la presente descripción como referencia como si cada publicación individual, solicitud de patente o patente emitida se indicara específica e individualmente para incorporarse como referencia.

Aunque las modalidades anteriores se han descrito en algún detalle a modo de ilustración y de ejemplo para fines de claridad de comprensión, será fácilmente evidente para un experto en la técnica a la luz de las enseñanzas contempladas en la presente descripción que pueden realizarse ciertos cambios y modificaciones en la misma sin apartarse del espíritu o alcance de las reivindicaciones adjuntas. Los siguientes ejemplos se proporcionan solo a modo de ilustración y no a modo de limitación. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que podrían cambiarse o modificarse para producir resultados esencialmente similares.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

CONSTRUCCIÓN DE TCR (RECEPTORES DE CÉLULAS T) INDUCIBLES POR RAPAMICINA

5 Los vectores lentivirales que comprenden constructos que incluyen al menos un dominio de multimerización (por ejemplo, un dominio de dimerización inducible por rapamicina), una subunidad de CD3, y un dominio de direccionamiento a antígeno extracelular se diseñaron, clonaron y verificaron por secuencia. Los constructos comprenden varias combinaciones de las siguientes unidades: una secuencia señal (por ejemplo, una secuencia señal derivada de CD8 α o IgK), uno o más dominios de multimerización (por ejemplo, una proteína de unión a FK506 (FKBP12 o FKBP) y una proteína de unión a FKBP-rapamicina (FRB o FRB*)), una subunidad de CD3, uno o más péptidos de autoescisión virales (por ejemplo, péptidos de autoescisión P2A o T2A) uno o más dominios dirigidos a antígenos extracelulares (por ejemplo, un dominio de direccionamiento derivado de anticuerpo o un dominio de direccionamiento derivado de ligando natural, varias bisagras y dominios transmembrana (por ejemplo, los derivados de CD4 o CD28), uno o más dominios intracelulares (por ejemplo, dominios coestimuladores), y uno o más dominios de receptor de citocinas o correceptor (ver **Figuras 1A-1H**). Los TCR transgénicos también se expresaron junto con los componentes anteriores en algunos constructos.

20

EJEMPLO 2

EVALUACIÓN DE CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA SIN DOMINIO

BISAGRA QUE ANCLE FKBP12

Las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos (ver

25

Leung *et al.*, *JCI Insight.*, 30 de abril de 2019;5(11)). Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina sin dominio bisagra entre el dominio de multimerización FKBP12 y el dominio transmembrana CD4 (CD4_{tm}) del componente de direccionamiento (SR024) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos (Wilson Wolf) 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células SR024-T) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominio de direccionamiento (por ejemplo, VHH anti-CD33), dominio de multimerización FRB y dominio de multimerización FKBP12, mediante el uso de una fusión CD33-Fc recombinante, anticuerpo anti-FRB y anticuerpo anti-FKBP12, respectivamente. Como se muestra en la **Figura 2**, los componentes FRB y CD33 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron.

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR024-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR024-T y una línea celular modificada genéticamente para expresar altos niveles de CD33 (**Figura 3**). Las células SR024-T liberaron cada una de estas 4 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD). Adicionalmente, las células T se cultivaron solas sin antígeno presente, tanto en presencia de como sin 1 nM de rapamicina (**Figura 4**). En

ambos casos, las células SR024-T produjeron 2 órdenes de magnitud menos IFN γ que si se hubieran cultivado en presencia de antígeno.

La citotoxicidad de las células SR024-T se evaluó incubándolas con células que expresan el antígeno diana y una molécula fluorescente roja nuclear. Las células que expresan fluorescencia nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan fluorescencia nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 200 horas mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Si bien las células SR024-T no eliminaron efectivamente las células diana CD33+ (**Figura 5A**), se expandieron significativamente en estos cultivos en comparación con un control de células T (**Figura 5B**).

EJEMPLO 3

EVALUACIÓN DE CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON FKBP12 ANCLADO A DOMINIOS BISAGRA DE CD4 O CD28

Las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron PBMC en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con un componente de direccionamiento que contiene FKBP12 anclado a dominios bisagra de CD4 o CD28 (CD4h o CD28h), o ningún dominio bisagra (SR022, SR020 y SR024) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células SR022-, SR020-, y SR024-T) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominio de direccionamiento (por ejemplo, VHH anti-CD33), dominio de multimerización FRB y dominio de multimerización FKBP12, mediante el uso de una fusión CD33-Fc recombinante, anticuerpo anti-FRB y anticuerpo anti-FKBP12, respectivamente. Los componentes FRB y CD33 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 6**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR022-, SR020-, y SR024-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR022-, SR020-, o SR024-T; y una línea celular modificada genéticamente para expresar altos niveles de CD33 (**Figura 7A**). Tanto las células SR022- como SR020-T liberaron cada una de estas 4 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD). SR020 mostraron una disminución de IFN γ , IL2 y TNF α en comparación con SR022, pero IL4 comparable. Las células SR024-T tenían una disminución de la liberación de citocinas en las 4 citocinas en comparación con las células SR022- y SR020-T.

Las células T también se cocultivaron con líneas celulares CD33+ con densidad de antígeno alta, media y baja. Las células SR022- y SR020-T producen más IFN γ que las células SR024-T a todas las densidades de antígeno, particularmente a baja densidad de antígeno (**Figura 7B**). Adicionalmente, las células SR022- y SR020-T generan IL2 en cultivos a todas las densidades de antígeno, mientras que SR024-T produjeron poco o nada de IL2 (**Figura 7C**). Las células SR022-T secretan más IFN γ e IL2 en líneas diana de densidad de antígeno CD33+ alta, media y baja. Las células T también se cultivaron solas sin antígeno presente, tanto en presencia de como sin 1 nM de rapamicina (**Figura 8**). Sin antígeno presente, las células

SR024, SR022 y SR020-T generaron 2 órdenes de magnitud menos IFN γ que cuando estaba presente el antígeno.

La citotoxicidad de las células SR024-, SR022- y SR020-T se evaluó incubándolas con células que expresan el antígeno diana y una tinción roja nuclear. Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 200 horas mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Si bien las células SR024-T mostraron una eliminación mínima de las células diana CD33+ (**Figura 9A**), se expandieron significativamente en estos cultivos en comparación con un control de células T (**Figura 9B**). Las células SR022-T pudieron eliminar de manera efectiva células diana CD33+ (**Figura 9A**) y expandirse en comparación con un control de células T (**Figura 9B**). Mientras que las células SR020-T se expandieron bien en comparación con el control (**Figura 9B**), se desempeñaron de manera intermedia en el ensayo de citotoxicidad (**Figura 9A**). En general, las células SR022-T se desempeñaron significativamente mejor en un ensayo de citotoxicidad en comparación con las células SR020- o SR024-T.

Las **Figuras 7A-7C, 8 y 9A-9B** demuestran que SR020 y SR022, que comprenden un dominio bisagra, exhiben perfiles de liberación de citocinas mejorados y mayor eliminación de células diana CD33+ en comparación con SR024, que carece de un dominio bisagra (ver **Figuras 1A y 1D**). Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, se contempla que la adición del dominio bisagra a los componentes de señalización mejora la función de la arquitectura al permitir que el primer dominio de multimerización del componente de señalización se alinee espacialmente mejor con el dominio de multimerización del componente de direccionamiento, aumentando sorprendentemente la eficacia de los componentes de direccionamiento que comprenden un dominio bisagra en comparación con los componentes de direccionamiento que carecen de un dominio bisagra.

EJEMPLO 4

EVALUACIÓN DE CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON FRB ADJUNTO A CD3 γ

Las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con FRB adjunto a CD3 γ en lugar de CD3 ϵ (SR021) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células SR021-T) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominio de direccionamiento (por ejemplo, VHH anti-CD33), dominio de dimerización FRB y dominio de dimerización FKBP12, mediante el uso de una fusión CD33-Fc recombinante, anticuerpo anti-FRB y anticuerpo anti-FKBP12, respectivamente. Los componentes FRB y CD33 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 10**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR021-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR021-T y una línea celular modificada genéticamente para expresar altos niveles de CD33 (**Figura 11**). Las

células SR021-T liberaron cada una de estas 4 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD). Adicionalmente, las células T se cultivaron solas sin antígeno presente, tanto sin como en presencia de 1 nM de rapamicina (**Figura 12**). Sin antígeno presente, las células SR021-T generaron 2 órdenes de magnitud menos IFN γ que cuando estaba presente el antígeno.

La citotoxicidad de las células SR021-T con respecto a las células que expresan el antígeno diana se evaluó mediante el uso de una línea diana que expresó una tinción roja nuclear y se monitoreó a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 200 horas. Las células SR021-T mostraron una tendencia a eliminar células CD33+ (**Figura 13A**) y se expandieron significativamente en comparación con un control de células T (**Figura 13B**).

EJEMPLO 5

EVALUACIÓN DE CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON FRB* (T2098L)

Las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos.

Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con FRB o un FRB mutante, FRB (T2098L), que permite la unión de ciertos análogos de rapamicina (denotados FRB*) (SR022 y SR001, respectivamente) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para

determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células SR022-T, y células SR001-T para FRB y FRB* respectivamente) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominio de direccionamiento (por ejemplo, VHH anti-CD33) y dominio de multimerización FRB, mediante el uso de una fusión CD33-Fc recombinante y anticuerpos anti-FRB, respectivamente. Los componentes FRB y CD33 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 14**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR022-T y células SR001 T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2, y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR022-, o SR001-T, y una línea celular modificada genéticamente para expresar altos niveles de CD33 (**Figura 15**). Tanto las células SR022- como SR001-T liberaron cada una de estas 3 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD).

Adicionalmente, las células T se cultivaron solas sin antígeno presente, tanto sin como en presencia de 1 nM de rapamicina (**Figura 16**). Sin antígeno presente, las células SR022- y SR001-T generaron 3 órdenes de magnitud menos IFN γ que cuando estaba presente el antígeno.

La citotoxicidad de las células SR001-T con respecto a las células que expresan el antígeno diana se evaluó mediante el uso de una línea diana que expresó una tinción roja nuclear y se monitoreó a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 160 horas. Las células SR001-T efectivamente

eliminaron las células diana CD33+ (**Figura 17A**) y se expandieron significativamente en comparación con un control de células T (**Figura 17B**).

EJEMPLO 6

5 EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON FKBP12 DISTAL A LOS DOMINIOS DE DIRECCIONAMIENTO A ANTÍGENO

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos
10 diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4 (CD4h), transmembrana (CD4tm) e intracelular mínimo (CD4ic) anclados a un dominio de direccionamiento a antígeno seguido de un dominio de
15 multimerización FKBP12 (SR028) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.
20 Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células SR028-T) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominio de direccionamiento (por ejemplo, VHH anti-CD33), dominio de multimerización FRB y dominio de multimerización FKBP12, mediante el uso de una fusión CD33-Fc recombinante, anticuerpo
25 anti-FRB y anticuerpo anti-FKBP12, respectivamente. Los componentes FRB, FKBP12 y CD33

se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 18**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR028-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR028-T y una línea celular modificada genéticamente para expresar altos niveles de CD33 (**Figura 19**). Las células SR028-T liberaron cada una de estas 4 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD). Adicionalmente, las células T se cultivaron solas sin antígeno presente, tanto sin como en presencia de 1 nM de rapamicina. Si bien las células SR028-T no produjeron IFN γ cuando la rapamicina estaba ausente, cuando se añadió 1 nM de rapamicina a las células SR028-T sin antígeno presente, se liberó IFN γ a niveles comparables a cuando estaba presente el antígeno (**Figura 20**). Las células SR028-T produjeron una cantidad significativa de IFN γ sin antígeno presente, comparable a lo que se produjo en presencia de antígeno.

La citotoxicidad de las células SR028-T con respecto a las células que expresan el antígeno diana se evaluó mediante el uso de una línea diana que expresó una tinción roja nuclear y se monitoreó a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 200 horas. Las células SR028-T efectivamente eliminaron las células diana CD33+ (**Figura 21A**) y se expandieron significativamente en comparación con un control de células T (**Figura 21B**).

EJEMPLO 7

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON DIRECCIONAMIENTO A MÚLTIPLES ANTÍGENOS

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4, transmembrana e intracelular anclados a un dominio de multimerización FKBP12 o FRB y dos dominios de direccionamiento a antígeno (SR004 y SR006) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos (Wilson Wolf) 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células SR004-T y células SR006-T) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominios de direccionamiento (por ejemplo, VHH anti-CD33 y anti-CLL1) y dominio de multimerización FRB, mediante el uso de una fusión CD33-Fc recombinante y anticuerpos anti-FRB, respectivamente. Los componentes FRB, anti-CD33 y anti-CLL1 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 22**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR0004- y SR0006-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2, IL4

y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR004-T y SR006-T y una línea celular modificada genéticamente para expresar altos niveles de CD33 y CLL1. Las células SR004- y SR006-T liberaron cada una de estas 4 citocinas a niveles distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD). Las células SR004-T
5 tendieron a mostrar una mayor liberación de IFN γ e IL2 con respecto a las células SR006-T y mostraron una liberación de TNF α significativamente mayor (**Figura 23**). Adicionalmente, las células T se cultivaron solas sin antígeno presente, tanto sin como en presencia de 1 nM de rapamicina. Si bien las células SR004-T y las células SR006-T no produjeron IFN γ cuando la rapamicina estaba ausente, cuando se añadió 1 nM de rapamicina a las células SR004-T sin
10 antígeno presente, se liberó IFN γ a niveles por debajo de los observados antígeno presente, pero por encima del inicio (**Figura 24**).

La citotoxicidad de las células SR004 y SR006-T con respecto a las células que expresan ambos antígenos diana se evaluó mediante el uso de una línea diana que expresó una tinción roja nuclear y se monitoreó a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de
15 obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 250 horas. Las células SR004- y SR006-T eliminaron efectivamente las células diana CD33+CLL1+ (**Figura 25A**) y se expandieron significativamente en estos cultivos en comparación con un control de células T no
20 transducidas (**Figura 25B**).

EJEMPLO 8

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON DOMINIO COESTIMULADOR DE 4-1BB

25 En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y

expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4 y transmembrana anclados a un dominio de multimerización FKBP12 y dos dominios de direccionamiento a antígeno, con y sin un dominio coestimulador de 4-1BB (SR030 y SR008, respectivamente) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células SR008-T y células SR030-T) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominios de direccionamiento (por ejemplo, VHH anti-CD33 y anti-CLL1) y dominio de multimerización FRB, mediante el uso de una fusión CD33-Fc recombinante y anticuerpos anti-FRB, respectivamente. Adicionalmente, se usó un anticuerpo anti-VHH agnóstico del antígeno para detectar cualquier dominio de direccionamiento con un formato VHH. Los componentes FRB, anti-CD33 y anti-CLL1 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figuras 26A y 26B**). Esto se validó mediante el uso de anti-VHH.

Adicionalmente, las células SR008- y SR030-T se tiñeron mediante el uso de anticuerpos contra CD62L y CD45RA y la expresión de cada molécula se determinó mediante el uso de citometría de flujo. Las células se diferenciaron entonces en poblaciones CD62L+CD45RA+ (T vírgenes), CD62L+CD45RA- (T de memoria central), CD62L-CD45RA+ (T de memoria efectora) y CD62L-CD45RA- (T efectora) mediante el uso de Flowjo para seleccionar células teñidas. Mientras que las células SR008-T se asemejaban a una célula no

transducida en el fenotipo, la adición de coestimulación de 4-1BB alteró el fenotipo de células T para sesgarse hacia la diferenciación de memoria efectora en comparación con los controles no transducidos en los compartimentos de células T CD4+ (**Figura 26C**) y CD8+ (**Figura 26D**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR0008- y SR0030-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR008- y SR030-T y una línea celular modificada genéticamente para expresar altos niveles de CD33 y CLL1 (**Figuras 27A y 27B**, respectivamente). Las células SR008- y SR030-T liberaron cada una de estas 4 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD). Además, las células SR030-T produjeron más IFN γ y TNF α en comparación con las células SR008-T que carecían de coestimulación de 4-1BB.

La actividad independiente del antígeno y dependiente de la rapamicina de las células SR0008- y SR0030-T se evaluó en cultivos con 1 nM de rapamicina sola. Específicamente, la producción de IFN γ se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR008- y SR030-T solas, con y sin rapamicina (**Figura 27C**). Las células SR030-T liberaron significativamente más IFN γ que las células SR008-T con y sin rapamicina y sin estimulación de antígeno.

La citotoxicidad de las células SR008 y SR030-T con respecto a las células que expresan ambos antígenos diana se evaluó mediante el uso de una línea diana que expresó una tinción roja nuclear y se monitoreó a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 250 horas. Las células SR008 y SR030-T efectivamente eliminaron las células diana CD33+, y las células SR030-T controlaron el crecimiento tumoral durante un período de tiempo más largo (**Figura 28A**). De manera similar,

en un cocultivo con células diana CLL1+, las células SR030-T controlaron el crecimiento de las células tumorales durante más tiempo en comparación con las células SR008-T (**Figura 28B**).

EJEMPLO 9

5 EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON DOMINIO COESTIMULADOR DE CD28

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos
10 diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4 y transmembrana anclados a un dominio de multimerización FKBP12 y un dominio de direccionamiento a antígeno, con y sin un dominio coestimulador de CD28
15 (SR001-28 y SR001, respectivamente) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.
20 Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células SR001-T, y células SR001-28-T) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominios de direccionamiento (por ejemplo, anti-CD33) y dominios de multimerización FRB, mediante el uso de una fusión CD33-Fc recombinante y anticuerpo anti-FRB,
25 respectivamente. Los componentes FRB y anti-CD33 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 29**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR001- y SR001-28-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2, IL4 y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR001- y SR001-28-T y una línea celular que expresa endógenamente altos niveles de CD33 (**Figura 30**). Las células SR001- y SR001-28-T liberaron cada una de estas 4 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD).

La citotoxicidad de las células SR001 y SR001-28-T con respecto a las células que expresan ambos antígenos diana se evaluó mediante el uso de una línea diana que expresó una tinción roja nuclear y se monitoreó a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 150 horas. Las células SR001 y SR001-28-T eliminaron efectivamente las células diana CD33+ (**Figura 31A**) y se expandieron significativamente en estos cultivos en comparación con un control de células T no transducidas (**Figura 31B**).

EJEMPLO 10

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON DOMINIO COESTIMULADOR DE 4-1BB O CD28 IN VIVO

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con

dominios de bisagra CD4 y transmembrana anclados a un dominio de multimerización FKBP12 y un dominio de direccionamiento a antígeno a un dominio coestimulador de 4-1BB o CD28 (SR001, SR001-41BB, SR001-28) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 1 l 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Los ratones NSG hembras recibieron una dosis intravenosa con células tumorales de xenoinjerto HL-60 CD33+ que expresan luciferasa de luciérnaga. Después de 10 días de crecimiento tumoral, se administraron 10E6 células SR001, SR001-41BB o SR001-28 T no transducidas por vía intravenosa sin rapamicina (**Figura 32A**) o con rapamicina dosificada tres veces por semana (**Figura 32B**). Alternativamente, 3E6 células SR001, SR001-41BB o SR001-28 T no transducidas se administraron por vía intravenosa con rapamicina dosificada tres veces por semana (**Figura 32C**) y la supervivencia se monitoreó durante 38 días (**Figura 32D**). En todos los casos, SR001 se desempeñó o tuvo una tendencia mejor que las células SR001-41BB y SR001-28 T.

EJEMPLO 11

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON UN DOMINIO DE CORRECEPTOR DE CD4 O CD8

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con

dominios de bisagra CD4 y transmembrana anclados a un dominio de multimerización FKBP12 y un dominio de direccionamiento a antígeno a un dominio de correceptor de CD4 o CD8 (SR022, SR022+CD4 y SR022+CD8) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (SR022, SR022+CD4 y SR022+CD8) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, específicamente el dominio de multimerización FRB, mediante el uso de un anticuerpo anti-FRB. FRB se expresó altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 33**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR022, SR022+CD4 y SR022-CD8-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ e IL2 se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR022, SR022+CD4 y SR022+CD8-T y una línea celular que expresa endógenamente altos niveles de CD33 (**Figura 34**). Las células SR022, SR022+CD4 y SR022+CD8-T liberaron cada una de estas 2 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD).

EJEMPLO 12

EVALUACIÓN DE CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON UN TCR TRANSGÉNICO

5 En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina y un TCR transgénico (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra
10 CD3 humano y CD28 humano. Los vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4 y transmembrana anclados a un dominio de multimerización FKBP12 y un dominio de direccionamiento a antígeno. Adicionalmente, el mismo vector lentiviral codifica un TCR transgénico (SR001 y TCR+SR001). Este vector se usó para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron
15 a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

 Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (SR001
20 y TCR+SR001) se analizaron para la integración de transgenes mediante el uso de un ensayo basado en qPCR para determinar el número de copias de vector (**Figura 35A**) y la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina + TCR transgénico mediante citometría de flujo, que incluye el TCR, mediante el uso del anticuerpo específico de la cadena beta y un tetrámero específico del epítipo (**Figuras 35B y 35C**), y los dominios de
25 direccionamiento mediante el uso de un anti-VHH. Todos los componentes se expresaron

altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figuras 35D y 35E**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR001 y TCR+SR001-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ , IL2 y TNF α se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR001 y TCR+SR001-T y una línea celular que expresa endógenamente altos niveles del epítipo HLA-A2+TCR, con y sin rapamicina (**Figura 36A**). La producción de IFN γ también se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR001 y TCR+SR001-T y una línea celular que expresa endógenamente altos niveles de CD33, con y sin rapamicina (**Figura 36B**). En todos los casos, las células SR001 y TCR+SR001-T liberaron cada citocina a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD).

Adicionalmente, la combinación del TCR transgénico con SR001 en células T no disminuyó la liberación de citocinas específicas del antígeno en comparación con las células T que expresan solo TCR o SR001.

La citotoxicidad de las células SR001 y TCR+SR001-T con respecto a las células que expresan cualquiera de los antígenos diana se evaluó mediante el uso de dos líneas diana que expresaron una tinción roja nuclear y se monitorearon a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 120 horas. Las células TCR o TCR+SR001-T eliminaron efectivamente las células diana epítipo de TCR+ (**Figura 36C, panel superior**) mientras que las células SR001 y TCR+SR001-T eliminan efectivamente las células diana CD33+ (**Figura 36C, panel inferior**).

EJEMPLO 13

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA A DENSIDAD DE ANTÍGENO MUY BAJA

5 En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina y un TCR transgénico (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra

10 CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4 y transmembrana anclados a un dominio de multimerización FKBP12 y un dominio de direccionamiento a antígeno (SR001) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las

15 células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

 La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR001-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en

20 presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, las células diana se transfectaron con ARNm que codifica CD33 o CLL1 para generar células diana que expresan menos de 1500 moléculas de cada uno por célula. La producción de IL2 se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con SR001 (**Figuras 37A y 37B**). Las células SR001-T liberaron IL2 a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD).

EJEMPLO 14

EVALUACIÓN DE CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA IN VIVO PARA CONTROLAR TUMORES CON BAJO CONTENIDO DE ANTÍGENO

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4 y transmembrana anclados a un dominio de multimerización FKBP12 y un dominio de direccionamiento a antígeno (es decir, un VHH de CD33 o un VHH de CLL1) (SR001 y SR007, respectivamente) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 1 l 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Los ratones NSG hembras recibieron una dosis intravenosa con células tumorales de xenoinjerto OCI-AML3 CD33+CLL1+ que expresan luciferasa de luciérnaga. Después de 10 días de crecimiento tumoral, se administraron 10E6 células SR007-, o CAR-T reguladas por comparador por vía intravenosa sin rapamicina con rapamicina dosificada tres veces por semana (**Figura 38**). El CAR regulado por comparador (Reg CAR 1) fue un 41BB-CD3ζ de 2da generación dividido en dos dominios regulados por rapamicina, mediante el uso del mismo agente de unión de CLL1 que SR007 (ver, por ejemplo, Leung *et al.*, *JCI Insight.*, 30 de abril de 2019;5(11), por el diseño general de CAR regulado). Los tumores de ratones tratados con células SR007-T se controlaron más rápido y más profundamente que los de los ratones tratados con células CAR T reguladas por comparador.

EJEMPLO 15

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA DIRIGIDAS A CD19

5 En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y
10 CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4, transmembrana e intracelular anclados a un dominio de multimerización FKBP12 o FRB y dos dominios de direccionamiento a antígeno (SR10167 y SR10168; cada uno con un VHH de CD19 o un scFv de CD19, respectivamente) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de
15 cultivo G-REX® de 24 pocillos (Wilson Wolf) 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

 Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células
20 SR10167- y SR10168-T) se analizaron para determinar la integración transgénica mediante el uso de un ensayo basado en qPCR para determinar la cantidad de copias de vector (**Figura 39A**) y para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluye dominios de direccionamiento (por ejemplo, VHH de CD19 o scFv) y dominio de multimerización FRB, mediante el uso de una
25 fusión CD19-Fc recombinante y anticuerpos anti-FRB, respectivamente. Los componentes FRB

y anti-CD19 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figuras 39B y 39C**).

Las células T se cultivaron solas sin antígeno presente, tanto sin como en presencia de 1 nM de rapamicina. Las células SR10167- y SR10168-T no produjeron IFN γ cuando la rapamicina estaba ausente y solo pequeñas cantidades comparables a las no transducidas cuando se añadió 1 nM de rapamicina al cultivo. (**Figuras 40A y 40B**). En comparación, los CAR regulados por comparador a los que se direccionó mediante el uso de VHH de CD19 (Reg CAR1) o scFv de CD19 (Reg CAR 2) produjeron IFN γ a niveles significativamente más altos que el inicio tanto con como sin 1nM de rapamicina en los cultivos.

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR10167- y SR10168-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia o ausencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR10167- y SR10168-T y líneas celulares que expresan endógenamente CD19 (**Figuras 41A y 41B**).

Además, se cuantificaron el TNF α y la IL2. Las células SR10167- y SR10168-T liberaron cada una de estas 3 citocinas a niveles distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD) pero menores que los de las CAR T reguladas comparables. (**Figuras 42A-42D**).

La citotoxicidad de las células SR10167 -T con respecto a las células que expresan antígenos diana se evaluó mediante el uso de dos líneas diana que expresaron GFP y se monitorearon a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan GFP (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan GFP (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 120 horas. Las células SR10167 -T efectivamente eliminan las células diana CD19+ (**Figuras 43A y 43B**). Para ambos cultivos diana CD19+, las células SR10167-T tendieron a tener una citotoxicidad superior a la del CAR regulado por comparador (Reg CAR 1).

EJEMPLO 16

CONSTRUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE ARQUITECTURAS CONSTITUTIVAS SIMILAR A RECEPTOR DE CÉLULAS T

5 Para generar una arquitectura constitutiva similar a TCR independiente de la rapamicina, los dominios FRB y FKBP12 se sustituyeron por dominios de heterodimerización derivados de la región CH3 de anticuerpos biespecíficos modificados genéticamente con Fc. Se diseñaron y se clonaron vectores lentivirales que comprenden constructos que incluyen pares de dominios de heterodimerización constitutivos, subunidades de CD3 y un dominio de direccionamiento a
10 antígeno y se verificaron las secuencias. Los constructos comprenden una expresión de accionamiento de promotor de una combinación de las siguientes unidades: una secuencia señal de CD8 α o IgKa, pares de dominios de heterodimerización de Fc CH3 de anticuerpo, un dominio de direccionamiento derivado de anticuerpo (por ejemplo, VHH de CD33), bisagra de CD4, dominios transmembrana e intracelular. (**Figura 44**; constructos SR292, SR293, y
15 SR296). Específicamente, para los constructos SR292, SR293 y SR296, los pares de dominio de heterodimerización CH3 se derivaron mediante el uso de mutaciones de anticuerpos de botón en ojal descritos anteriormente, SEEDbody mediante el uso de dominios quiméricos de CH3 IgA/IgG, y pares electrostáticos DEKK, respectivamente (ver, por ejemplo, Merchant, A., Zhu, Z., Yuan, J. *et al.* An efficient route to human bispecific IgG. *Nat Biotechnol* 16, 677–681
20 (1998). Nardis, C., Hendriks, L., Poirier, E. *et al.* A new approach for generating bispecific antibodies based on a common light chain format and the stable architecture of human immunoglobulin G1. *J Biol Chem* 292, 14706-14717 (2017). Davis, J., Aperlo, C., Li, Y. *et al.* SEEDbodies: fusion proteins based on strand-exchange engineered domain (SEED) CH3 heterodimers in an Fc analogue platform for asymmetric binders or immunofusions and bispecific
25 antibodies *Protein Engineering, Design and Selection*, Volumen 23, Edición 4, Abril 2010,

Páginas 195–202. Aunque los pares se probaron en una orientación dentro del constructo, se prevé que la orientación opuesta funcionaría de manera similar.

Las células T que expresan arquitecturas constitutivas similares a receptores de células T (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican los constructos para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de antígeno. Se usaron un CAR estándar, CAR regulado, comparador de arquitectura y SR001 dirigidos al mismo antígeno como controles funcionales y comparadores.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células T SR292, SR293 y SR296) se analizaron mediante citometría de flujo para determinar la expresión extracelular del dominio de direccionamiento fusionado a una mitad de los dominios de heterodimerización CH3 unidos a un dominio transmembrana mediante el uso de un anticuerpo anti-VHH recombinante (**Figuras 45A y 45B**). Todos los constructos expresados y fueron evaluables.

La actividad dependiente de antígeno de las células T SR292, SR293, y SR296 se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno. Los constructos de control de dimerización inducidos, las células CAR reguladas y SR001 T, incluyeron la adición de un agente de dimerización para promover la actividad. Específicamente, la producción de IFN γ e IL2 se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cocultivos con células T y una línea celular HL60 que expresa el antígeno diana CD33 (**Figuras 46A y 46B**). Las células

SR292, SR293 y SR296-T liberaron citocinas a niveles que se amplificaron con respecto a las células T de control no transducidas al inicio, lo que indica la activación dependiente del antígeno. Las células T SR292, SR293 y SR296 no mostraron una secreción de citocinas robusta cuando se cultivaron solas sin presencia de antígeno y los niveles fueron comparables a los de las células T no transducidas (**Figura 47**).

La citotoxicidad de las células SR292, SR293, y SR296-T se evaluó mediante el cocultivo de células SR-T transducidas con células tumorales positivas para antígeno modificadas genéticamente para expresar una proteína fluorescente roja nuclear. Las células que presentan fluorescencia nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan fluorescencia nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 140 horas mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células T modificadas SR292, SR293 y SR296 eliminaron efectivamente las células tumorales positivas para antígeno marcadas con rojo y las células T modificadas se expandieron a niveles comparables a los de una molécula CAR anti-CD33 de control (**Figuras 48A y 48B**).

En conjunto, estos datos son indicativos de la generación de una arquitectura constitutiva similar a TCR dependiente de antígeno capaz de redirigir la actividad de las células T.

EJEMPLO 17

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON DOMINIOS DE RECEPTOR DE CITOCINA

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica

(PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4, transmembrana e intracelular anclados a un dominio de multimerización FKBP12 o FRB y dominios de direccionamiento a antígeno a dominios de señalización intracelular de receptor de citocina (SR001±IL7Rα, IL2Rβ, cadena γ y común o tanto IL2Rβ como cadena γ y común) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos (Wilson Wolf) 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (células T SR001±IL7Rα, IL2Rβ, de cadena γ y común o tanto IL2Rβ como de cadena γ y común) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, específicamente dominio de dimerización de FRB mediante el uso de anticuerpo anti-FRB. Los componentes FRB se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 49**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células T SR001±IL7Rα, IL2Rβ, de cadena γ y común, o tanto IL2Rβ como de cadena γ y común se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia o ausencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFNγ e IL2 se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células T SR001±IL7Rα, IL2Rβ, de cadena γ y común o tanto IL2Rβ como de cadena γ y común y líneas celulares que expresan endógenamente CD33. Las células T SR001±IL7Rα, IL2Rβ, de cadena γ y común o tanto IL2Rβ como de cadena γ y común liberaron cada una de estas 2 citocinas a niveles que eran distinguibles del inicio (control no transducido) pero inferiores a los de CAR T reguladas comparables. (**Figuras 50A-50D**).

La proliferación de células T específicas del antígeno de células T SR001±IL7Rα, IL2Rβ, de cadena γ y común o tanto IL2Rβ como de cadena γ y común se evaluó mediante el cultivo de una línea diana CD33+ que expresa una tinción fluorescente nuclear roja y monitoreando el crecimiento de células T a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 100 horas. Las células T SR001±IL7Rα, IL2Rβ, de cadena γ y común o tanto IL2Rβ como de cadena γ y común proliferaron en presencia de células diana CD33+ (**Figura 51**), particularmente aquellas que tenían señalización de IL7Rα y cadena γ y común.

EJEMPLO 18

EVALUACIÓN DE DIRECCIONAMIENTO A CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA CON LIGANDOS NATURALES

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4, transmembrana e intracelular anclados a un dominio de multimerización FKBP12 o FRB y dominios de direccionamiento a antígeno de ligando natural (p. ej., endodominios PD1 de alta afinidad (ver, p. ej., US20220378873A1) y PD1; SR300 y SR301, respectivamente); para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos (Wilson Wolf) 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para

determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (SR300 y SR301) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluyen el dominio de multimerización FRB y el ligando natural PD1, mediante el uso de anticuerpos anti-FRB y anti-PD1, respectivamente. Los componentes FRB y PD1 se expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 52**).

La citotoxicidad específica del antígeno de las células SR300 y SR301-T se evaluó mediante el cultivo de una línea diana PDL1+ o inactivada para PDL1/PDL2 que expresa una tinción fluorescente nuclear roja y el monitoreo del crecimiento de las células T a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-T) se rastrearon durante aproximadamente 115 horas. Las células SR300 y SR301-T eliminaron las células diana PDL1+ solo cuando estaba presente la rapamicina (**Figuras 53A-53D**), pero no cuando se inactiva PDL1/PDL2. El ectodominio PD1 de alta afinidad (células SR300-T) eliminaron más eficientemente las líneas celulares diana PDL1+ en comparación con el ectodominio PD1 natural.

EJEMPLO 19

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS NK DEL RECEPTOR DE Fc INDUCIBLE POR RAPAMICINA

En otro experimento, las células NK que expresan receptores de Fc inducibles por rapamicina (células SR-NK) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se activaron con microesferas recubiertas con anti-CD2 y anti-NKp46, luego se cultivaron en

medios de crecimiento que contenían suero humano, HEPES, glutamina y un cóctel de citocinas específico de NK, que incluye IL2, IL15, IL18, IL21 e IL12. Se usaron vectores lentivirales que codifican receptor Fc épsilon gamma inducible por rapamicina con dominios de bisagra CD4, transmembrana e intracelular anclados a un dominio de multimerización FKBP12 o FRB y dominios de direccionamiento a antígeno (SR354) para transducir las PBMC dos días después del inicio del cultivo. Las células se lavaron y luego se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos (Wilson Wolf) 48 horas después en medio de cultivo de NK que contenía IL2, IL15, IL18, IL21 e IL12. Después de un total de 10 días en cultivo, las células T CD3+ restantes en el cultivo se retiraron mediante el uso de clasificación de esferas magnéticas, lo que dio como resultado una población de solo células NK. Las células SR-NK se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-NK transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (SR354) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, que incluyen el dominio de direccionamiento a VHH, mediante el uso de un anticuerpo anti-VHH. Los componentes de direccionamiento a VHH expresaron altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 54**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR354- NK se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia o ausencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR354 y líneas celulares que expresan endógenamente CD33 o tenían CD33 inactivado. Las células SR354- NK liberaron citocinas a niveles que eran distinguibles con respecto al inicio (control no transducido) y se regularon completamente tanto por rapamicina como por antígeno. (**Figuras 55A y 55B**).

La citotoxicidad específica del antígeno de las células SR354-NK se evaluó mediante el cultivo de una línea diana CD33+ o inactivada para CD33 que expresa una tinción fluorescente nuclear roja y el monitoreo de la citotoxicidad a lo largo del tiempo mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes de células vivas Incucyte® (Sartorius). Las células que expresan tinción nuclear (línea diana positiva para antígeno) y las células que no expresan tinción nuclear (células SR-NK) se rastrearon durante aproximadamente 120 horas. Las células SR354-NK eliminaron las células diana CD33+ solo cuando estaba presente la rapamicina (**Figuras 55C y 55D**), pero no cuando se inactiva CD33.

EJEMPLO 20

EVALUACIÓN DE LAS CÉLULAS T DE TCR INDUCIBLE POR RAPAMICINA DIRIGIDAS A ROR1

En otro experimento, las células T que expresan receptores de células T inducibles por rapamicina (células SR-T) se generaron mediante el uso de un proceso de transducción y expansión de 10 días, luego se evaluó la expresión y la actividad biológica contra antígenos diana específicos. Brevemente, se cultivaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en un medio que contiene IL-2 y se activaron con anticuerpos contra CD3 humano y CD28 humano. Se usaron vectores lentivirales que codifican TCR inducibles por rapamicina con dominios de bisagra CD4 y transmembrana anclados a un dominio de multimerización FKBP12 y un dominio de direccionamiento a antígeno (SR303) para transducir las PBMC un día después del inicio del cultivo, luego las células se transfirieron a un sistema de cultivo G-REX® de 24 pocillos 48 horas después. Después de un total de 10 días en cultivo, las células SR-T se evaluaron para determinar la actividad dependiente de rapamicina y dependiente de antígeno, así como también la actividad de fondo independiente de rapamicina e independiente de antígeno.

Las células SR-T transducidas con vectores lentivirales descritos anteriormente (SR303) se analizaron para determinar la expresión extracelular de componentes clave del sistema inducible por rapamicina mediante citometría de flujo, específicamente el dominio de direccionamiento a ROR1, mediante el uso de un scFv anti-ROR1. scFv ROR1 se expresó
5 altamente en comparación con las células de control que no se transdujeron (**Figura 56**).

La actividad dependiente de antígeno y dependiente de rapamicina de las células SR303-T se evaluó en cocultivos con células tumorales diana positivas para antígeno en presencia de 1 nM de rapamicina. Específicamente, la producción de IFN γ e IL2 se cuantificó mediante el uso de MSD de sobrenadantes de cultivos con células SR303-T y una línea celular
10 que expresa endógenamente altos niveles de ROR1 humano (**Figuras 57A y 57B**). Las células SR303-T liberaron cada una de estas 2 citocinas a niveles altamente distinguibles con respecto al inicio (control no transducido; UTD). Adicionalmente, las células T se cultivaron solas sin antígeno presente, tanto sin como en presencia de 1 nM de rapamicina. Las células SR303-T produjeron muy poco IFN γ cuando la rapamicina estaba ausente o cuando se añadió 1 nM de
15 rapamicina sin antígeno presente (**Figura 57C**).

EJEMPLO 21

CONSTRUCTOS DE RECEPTORES INMUNITARIOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE ILUSTRATIVOS

En la presente descripción se contemplan receptores inmunitarios modificados genéticamente que comprenden componentes de señalización y direccionamiento que pueden redirigir la señalización de un complejo de receptor inmunitario multimérico nativo o modificado genéticamente/exógeno en respuesta a un antígeno seleccionado. Los componentes de señalización contemplados en la presente descripción comprenden un dominio de
20 multimerización, un enlazador opcional, y un dominio accionador. Los componentes de direccionamiento contemplados en la presente descripción comprenden un dominio extracelular

que comprende uno o más dominios de direccionamiento (también denominados en la presente descripción como “agentes de unión” o “agentes de unión a antígeno”), un dominio de multimerización, un dominio bisagra opcional, un dominio transmembrana y un dominio intracelular opcional (p. ej., dominio intracelular truncado, dominio de señalización intracelular, o

5 dominio coestimulador). Los componentes y subunidades/dominios de receptor inmunitario modificado genéticamente pueden combinarse sorprendentemente para producir un receptor inmunitario modificado genéticamente que tenga mayor sensibilidad que los CAR tradicionales, señalización tónica o independiente del antígeno baja, mayores capacidades de direccionamiento, y opcionalmente regulabilidad. En otras palabras, los componentes pueden

10 combinarse sin destruir la funcionalidad del complejo de receptor inmunitario nativo o modificado genéticamente/exógeno o el o los componentes de direccionamiento del o los receptores inmunitarios modificados genéticamente descritos en la presente descripción. Por lo tanto, los receptores inmunitarios modificados genéticamente contemplados en la presente descripción también proporcionan sorprendentemente (1) multiespecificidad, (2) sensibilidad

15 aumentada a dianas no presentadas por el MHC, (3) señalización tónica o independiente del antígeno mínima, y (4) la capacidad de dirigirse simultáneamente a dianas intracelulares y extracelulares.

Los receptores inmunitarios modificados genéticamente pueden construirse en múltiples formatos y pueden diseñarse y construirse mediante el uso de

20 subunidades/dominios/polipéptidos conocidos (por ejemplo, dominios de multimerización, enlazadores polipeptídicos, dominios accionadores, dominios de direccionamiento, dominios bisagra, dominios transmembrana, y dominios intracelulares) y técnicas. Por ejemplo, un componente de señalización puede construirse mediante la unión de un dominio de multimerización (por ejemplo, una o más subunidades “A”) a un dominio accionador (por

25 ejemplo, una o más subunidades “C”) con o sin uno o más enlazadores polipeptídicos (por

ejemplo, con o sin una o más subunidades “B”) mediante el uso de técnicas de clonación estándar.

A continuación se proporcionan fórmulas de componentes de señalización generales ilustrativas:

5 $A - C$

$A - B - C$

Un componente de direccionamiento puede construirse mediante la unión de un dominio extracelular (por ejemplo, una o más subunidades “D”) a un dominio de multimerización (por ejemplo, una o más subunidades “A”), un dominio bisagra opcional (por ejemplo, una o más subunidades “E”), un dominio transmembrana (por ejemplo, una subunidad “F”), y un dominio intracelular opcional (por ejemplo, una o más subunidades “G”), con o sin uno o más enlazadores polipeptídicos (por ejemplo, con o sin una o más subunidades “B”) mediante el uso de técnicas de clonación estándar.

15 A continuación se proporcionan fórmulas de componentes de direccionamiento generales ilustrativas:

$D - A - E - F$

$D - B - A - E - F$

$D - A - E - F - G$

$D - B - A - E - F - G$

20 $D - D - A - E - F$

$D - D - B - A - E - F$

$D - D - A - E - F - G$

$D - D - B - A - E - F - G$

$D - B - D - A - E - F$

25 $D - B - D - B - A - E - F$

$D - B - D - A - E - F - G$

D – B – D – B – A – E – F – G

En varias modalidades, ambos componentes (es decir, señalización y direccionamiento) se expresan por una célula por separado (por ejemplo, a partir de diferentes polinucleótidos, ARN o ADN) o juntos como una proteína de fusión a partir de un solo polinucleótido, ARN o ADN. Los receptores inmunitarios modificados genéticamente contemplados en la presente descripción pueden diseñarse y construirse mediante el uso de subunidades/dominios/polipéptidos conocidos (por ejemplo, dominios de multimerización, enlazadores polipeptídicos, dominios accionadores, dominios de direccionamiento, dominios bisagra, dominios transmembrana, y dominios intracelulares) y técnicas.

La **Tabla 3** proporciona una lista ilustrativa de dominios de multimerización conocidos. La **Tabla 4** proporciona una lista ilustrativa de enlazadores polipeptídicos conocidos. La **Tabla 5** proporciona una lista ilustrativa de accionadores conocidos. La **Tabla 6** proporciona una lista ilustrativa de dominios de direccionamiento conocidos. La **Tabla 7** proporciona una lista ilustrativa de dominios bisagra conocidos. La **Tabla 8** proporciona una lista ilustrativa de dominios transmembrana conocidos. La **Tabla 9** proporciona una lista ilustrativa de dominios intracelulares conocidos. Sin embargo, otros dominios de multimerización conocidos, enlazadores polipeptídicos, dominios accionadores, dominios de direccionamiento, dominios bisagra, dominios transmembrana, dominios intracelulares, y TCR se pueden encontrar en toda la bibliografía, p. ej., que incluye, pero no se limita a US20120082661, WO2016014789, WO2022046730, WO2016033570, US8147832B2, WO2014026054, WO2018145649, WO2014065961, WO2020123947, WO2013049254, WO2019241685, WO2019241688, WO2016049214, WO2018236870, WO2020102240, WO2018183888, US6217866B1, WO2008119566, WO2003055917, WO2018073680, WO2014146672, WO2019200007, WO2016016859, WO2018119279, WO2020227072, WO2020227073, WO2020227071, WO2017153402, WO2007042289, WO2018028647, WO2005113595, US20180273602, WO2019067242, WO2020193767, US10538572B2, US11078252B2, WO2019140100,

WO2015009606, WO2021195503, WO2007131092, US20190169260, WO2012045085, WO2016115559, y WO2016187220, cada uno de los cuales se incorpora mediante referencia en la presente descripción en su totalidad. Dado que otros dominios de multimerización, enlazadores polipeptídicos, dominios accionadores, dominios de direccionamiento, dominios bisagra, dominios transmembrana, dominios intracelulares y TCR conocidos se conocen bien en la bibliografía, no se pretende que la invención se limite a los componentes ilustrativos descritos en las **Tablas 3-9**.

Tabla 3 - Dominios de Multimerización Ilustrativos (Subunidades “A”):

REFERENCIA DE SUBUNIDAD	NOMBRE DE SUBUNIDAD	SEQ ID NO:
A1	FRB*	1
A2	FRB	2
A3	FKBP12	3
A4	FKBP12 F36V	4
A5	CH3_AB (S354C T366W)	5
A6	CH3_IA (Y349C T366S L368A Y407V)	6
A7	CH3_DE (L351D L368E)	7
A8	CH3_KK (L351K T366K)	8
A9	CH3_GA (SEED 1)	9
A10	CH3_AG (SEED 2)	10

Tabla 4 - Enlazadores polipeptídicos ilustrativos (Subunidades “B”):

REFERENCIA DE SUBUNIDAD	SECUENCIA / NOMBRE	SEQ ID NO:
B1	GGGGS (G4S; 1xG4S)	11
B2	GGGGS GGGGS (2xG4S)	12
B3	GGGGS GGGGS GGGGS (3xG4S)	13
B4	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (4xG4S)	14
B5	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (5xG4S)	15
B6	DGGGS	16
B7	TGEKP	17
B8	GGRR	18
B9	EGKSSGSGSESKVD	19
B10	KESGSVSSEQLAQFRSLD	20
B11	GGRRGGGS	21
B12	LRQRDGERP	22
B13	LRQKDGGGGERP	23
B14	LRQKDGGGS GGGSERP	24
B15	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	25
B16	GSTSGSGKSSEGSSTKG	26
B17	GSTSGSGKSSEGGK	27
B18	GSTSGSGKPGSGEGS	28
B19	GGGS	29
B20	LEKT (enlazador yuTCR; uLNK)	30

B21	LEKTGGGGS (uLNK + enlazador G4S)	31
B22	ninguna	

Tabla 5 – Accionadores ilustrativos (Subunidades “C”):

REFERENCIA DE SUBUNIDAD	NOMBRE DE SUBUNIDAD	SEQ ID NO:
C1	CD3 ϵ	55
C2	CD3 γ	57
C3	CD3 δ	59
C4	Fc ϵ R1 γ v1	61
C5	Fc ϵ R1 γ v2	63
C6	Ig α /CD79a (BCR)	65
C7	Ig β /CD79b (BCR)	67
C8	DAP10	69
C9	DAP12	71

Tabla 6 – Dominios de direccionamiento ilustrativos (Subunidades “D”):

REFERENCIA A DE SUBUNIDAD	DIANA / DOMINIO	TIPO	SEQ ID NO:
D1	BCMA	scFv	50, 51, o 52
D2	CD19	scFv	53
D3	CD20	scFv	54, 55, o 56
D4	CD22	scFv	57

D5	CD33	scFv	58
D6	CD79A	scFv	59
D7	CD79B	scFv	60 o 61
D8	B7H3	scFv	62
D9	Muc16	scFv	63
D10	HER2	scFv	64
D11	EGFR	scFv	65
D12	FN-EDB	scFv	66
D13	CLDN18.2	scFv	67
D14	DLL3	scFv	68
D15	FLT3	scFv	69 o 70
D16	ROR1	scFv	71
D17	CD33	VHH	72, 73, o 74
D18	CLL1	VHH	75 o 76
D19	CD123	VHH	77 o 78
D20	CD20	VHH	79
D21	EGFR	VHH	80
D22	BCMA	VHH	81 u 82
D23	CD19	VHH	83
D24	PD-L1 / PD1	ECTO	84 u 85
D25	BCMA / APRIL	LIGANDO	86 u 87
D26	NKG2DLs / NKG2D	ECTO	88
D27	CD33	CDR	89, 90, y 91
D28	CLL1	CDR	92, 93, y 94

Tabla 7 - Dominios de bisagra ilustrativos (Subunidades “E”):

REFERENCIA DE SUBUNIDAD	NOMBRE DE SUBUNIDAD	SEQ ID NO:
E1	Bisagra CD4 mínima	41
E2	Bisagra CD28 mínima	42
E3	Bisagra IgG4	43
E4	Bisagra CD8	44
E5	Enlazador de bisagra; GGR	

Tabla 8 - Dominios transmembrana ilustrativos (Subunidades “F”):

REFERENCIA DE SUBUNIDAD	NOMBRE DE SUBUNIDAD	SEQ ID NO:
F1	CD4 transmembrana	45
F2	CD28 transmembrana	46
F3	CD8 transmembrana	47

5 Tabla 9 - Dominios intracelulares ilustrativos (Subunidades “G”):

REFERENCIA DE SUBUNIDAD	NOMBRE DE SUBUNIDAD	SEQ ID NO:
G1	CD4 intracelular truncado – v1	48
G2	CD4 intracelular truncado – v2	49
G3	Dominio de señalización intracelular 41BB	98

G4	Dominio de señalización intracelular de CD28	99
G5	Dominio del correceptor de CD4	100
G6	Dominio del correceptor de CD8	101
G7	Dominio de LAT	102
G8	Dominio de señalización del receptor alfa de IL7	103
G9	Dominio de señalización del receptor beta de IL2, truncado	104
G10	Dominio de señalización del receptor beta de IL2	105
G11	Dominio de señalización de cadena gamma común	106
G12	ninguna	

Como un ejemplo de un componente de señalización, el dominio de multimerización que se empareja con un dominio de multimerización de un componente de direccionamiento correspondiente de la **Tabla 3** (por ejemplo, una subunidad A1) puede combinarse con uno o más enlazadores polipeptídicos de la **Tabla 4** (por ejemplo, una subunidad B3) y un dominio de accionador de la **Tabla 5** (por ejemplo, una subunidad C1), para producir un componente de señalización novedoso (por ejemplo, un componente de señalización como se muestra en la SEQ ID NO: 111). Otros componentes de señalización ilustrativos se muestran en las SEQ ID NO: 107-110 y 112-115.

Como un ejemplo de un componente de direccionamiento, un dominio extracelular o uno o más dominios de direccionamiento de la **Tabla 6** (por ejemplo, una subunidad D17), puede combinarse con uno o más enlazadores polipeptídicos opcionales de la **Tabla 4** (por ejemplo, una subunidad B1), un dominio de multimerización que se empareja con un dominio de multimerización de un componente de señalización correspondiente de la **Tabla 3** (por ejemplo, una subunidad A3), un dominio bisagra de la **Tabla 7** (por ejemplo, una subunidad E1), un dominio transmembrana de la **Tabla 8** (por ejemplo, una subunidad F1), y un dominio

intracelular de la **Tabla 9** (por ejemplo, una subunidad G2), para producir un componente de direccionamiento novedoso (p. ej., un componente de direccionamiento como se muestra en la SEQ ID NO: 117). Otros componentes de direccionamiento ilustrativos se muestran en las SEQ ID NO: 116 y 118-136.

5 Adicionalmente, como se muestra y contempla adicionalmente en la presente descripción, pueden combinarse múltiples componentes “A” para producir dominios extracelulares multiespecíficos (por ejemplo, dominios de direccionamiento en tándem), y pueden combinarse múltiples enlazadores polipeptídicos para producir enlazadores funcionales.

 Además, un experto en la técnica comprenderá que una secuencia señal puede
10 enlazarse al extremo N-terminal de los componentes de señalización y/o direccionamiento para permitir un tráfico eficiente al compartimento de membrana celular. En consecuencia, en varias modalidades, cualquiera de los componentes de señalización y direccionamiento descritos en la presente descripción comprende una secuencia de señalización. En algunas modalidades, la secuencia de señalización es una secuencia señal IgK, CD8, o PD1. En algunas modalidades,
15 la secuencia de señalización es una secuencia señal IgK, CD8, o PD1 como se expone en cualquiera de las SEQ ID NO: 95-97.

 Las **Tablas 10 y 11** proporcionan una lista ilustrativa no limitante de componentes de señalización y direccionamiento, respectivamente, en base a los dominios de multimerización,

enlazadores polipeptídicos, dominios accionadores, dominios de direccionamiento, dominios bisagra, dominios transmembrana, y dominios intracelulares proporcionados en las **Tablas 3-9**.

Tabla 10 – Componentes de señalización ilustrativos:

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
1	A1	B1	C1
2	A1	B1	C2
3	A1	B1	C3
4	A1	B1	C4
5	A1	B1	C5
6	A1	B1	C6
7	A1	B1	C7
8	A1	B1	C8
9	A1	B1	C9
10	A1	B2	C1
11	A1	B2	C2
12	A1	B2	C3
13	A1	B2	C4
14	A1	B2	C5
15	A1	B2	C6
16	A1	B2	C7
17	A1	B2	C8

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
18	A1	B2	C9
19	A1	B3	C1
20	A1	B3	C2
21	A1	B3	C3
22	A1	B3	C4
23	A1	B3	C5
24	A1	B3	C6
25	A1	B3	C7
26	A1	B3	C8
27	A1	B3	C9
28	A1	B4	C1
29	A1	B4	C2
30	A1	B4	C3
31	A1	B4	C4
32	A1	B4	C5
33	A1	B4	C6
34	A1	B4	C7
35	A1	B4	C8
36	A1	B4	C9
37	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
38	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C2

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
39	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
40	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
41	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
42	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
43	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
44	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C8
45	A1	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
46	A2	B1	C1
47	A2	B1	C2
48	A2	B1	C3
49	A2	B1	C4
50	A2	B1	C5
51	A2	B1	C6
52	A2	B1	C7
53	A2	B1	C8
54	A2	B1	C9
55	A2	B2	C1
56	A2	B2	C2
57	A2	B2	C3
58	A2	B2	C4
59	A2	B2	C5

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
60	A2	B2	C6
61	A2	B2	C7
62	A2	B2	C8
63	A2	B2	C9
64	A2	B3	C1
65	A2	B3	C2
66	A2	B3	C3
67	A2	B3	C4
68	A2	B3	C5
69	A2	B3	C6
70	A2	B3	C7
71	A2	B3	C8
72	A2	B3	C9
73	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
74	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C2
75	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
76	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
77	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
78	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
79	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
80	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C8

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
81	A2	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
82	A3	B1	C1
83	A3	B1	C2
84	A3	B1	C3
85	A3	B1	C4
86	A3	B1	C5
87	A3	B1	C6
88	A3	B1	C7
89	A3	B1	C8
90	A3	B1	C9
91	A3	B2	C1
92	A3	B2	C2
93	A3	B2	C3
94	A3	B2	C4
95	A3	B2	C5
96	A3	B2	C6
97	A3	B2	C7
98	A3	B2	C8
99	A3	B2	C9
100	A3	B3	C1
101	A3	B3	C2

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
102	A3	B3	C3
103	A3	B3	C4
104	A3	B3	C5
105	A3	B3	C6
106	A3	B3	C7
107	A3	B3	C8
108	A3	B3	C9
109	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
110	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C2
111	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
112	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
113	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
114	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
115	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
116	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C8
117	A3	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
118	A4	B1	C1
119	A4	B1	C2
120	A4	B1	C3
121	A4	B1	C4
122	A4	B1	C5

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
123	A4	B1	C6
124	A4	B1	C7
125	A4	B1	C8
126	A4	B1	C9
127	A4	B2	C1
128	A4	B2	C2
129	A4	B2	C3
130	A4	B2	C4
131	A4	B2	C5
132	A4	B2	C6
133	A4	B2	C7
134	A4	B2	C8
135	A4	B2	C9
136	A4	B3	C1
137	A4	B3	C2
138	A4	B3	C3
139	A4	B3	C4
140	A4	B3	C5
141	A4	B3	C6
142	A4	B3	C7
143	A4	B3	C8

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
144	A4	B3	C9
145	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
146	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C2
147	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
148	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
149	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
150	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
151	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
152	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C8
153	A4	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
154	A5	B1	C1
155	A5	B1	C2
156	A5	B1	C3
157	A5	B1	C4
158	A5	B1	C5
159	A5	B1	C6
160	A5	B1	C7
161	A5	B1	C8
162	A5	B1	C9
163	A5	B2	C1
164	A5	B2	C2

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
165	A5	B2	C3
166	A5	B2	C4
167	A5	B2	C5
168	A5	B2	C6
169	A5	B2	C7
170	A5	B2	C8
171	A5	B2	C9
172	A5	B3	C1
173	A5	B3	C2
174	A5	B3	C3
175	A5	B3	C4
176	A5	B3	C5
177	A5	B3	C6
178	A5	B3	C7
179	A5	B3	C8
180	A5	B3	C9
181	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
182	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C2
183	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
184	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
185	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C5

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
186	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
187	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
188	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C8
189	A5	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
190	A6	B1	C1
191	A6	B1	C2
192	A6	B1	C3
193	A6	B1	C4
194	A6	B1	C5
195	A6	B1	C6
196	A6	B1	C7
197	A6	B1	C8
198	A6	B1	C9
199	A6	B2	C1
200	A6	B2	C2
201	A6	B2	C3
202	A6	B2	C4
203	A6	B2	C5
204	A6	B2	C6
205	A6	B2	C7
206	A6	B2	C8

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
207	A6	B2	C9
208	A6	B3	C1
209	A6	B3	C2
210	A6	B3	C3
211	A6	B3	C4
212	A6	B3	C5
213	A6	B3	C6
214	A6	B3	C7
215	A6	B3	C8
216	A6	B3	C9
217	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
218	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C2
219	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
220	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
221	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
222	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
223	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
224	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C8
225	A6	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
226	A7	B1	C1
227	A7	B1	C2

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
228	A7	B1	C3
229	A7	B1	C4
230	A7	B1	C5
231	A7	B1	C6
232	A7	B1	C7
233	A7	B1	C8
234	A7	B1	C9
235	A7	B2	C1
236	A7	B2	C2
237	A7	B2	C3
238	A7	B2	C4
239	A7	B2	C5
240	A7	B2	C6
241	A7	B2	C7
242	A7	B2	C8
243	A7	B2	C9
244	A7	B3	C1
245	A7	B3	C2
246	A7	B3	C3
247	A7	B3	C4
248	A7	B3	C5

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
249	A7	B3	C6
250	A7	B3	C7
251	A7	B3	C8
252	A7	B3	C9
253	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
254	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C2
255	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
256	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
257	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
258	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
259	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
260	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C8
261	A7	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
262	A8	B1	C1
263	A8	B1	C2
264	A8	B1	C3
265	A8	B1	C4
266	A8	B1	C5
267	A8	B1	C6
268	A8	B1	C7
269	A8	B1	C8

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
270	A8	B1	C9
271	A8	B2	C1
272	A8	B2	C2
273	A8	B2	C3
274	A8	B2	C4
275	A8	B2	C5
276	A8	B2	C6
277	A8	B2	C7
278	A8	B2	C8
279	A8	B2	C9
280	A8	B3	C1
281	A8	B3	C2
282	A8	B3	C3
283	A8	B3	C4
284	A8	B3	C5
285	A8	B3	C6
286	A8	B3	C7
287	A8	B3	C8
288	A8	B3	C9
289	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
290	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C2

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
291	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
292	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
293	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
294	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
295	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
296	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C8
297	A8	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
298	A9	B1	C1
299	A9	B1	C2
300	A9	B1	C3
301	A9	B1	C4
302	A9	B1	C5
303	A9	B1	C6
304	A9	B1	C7
305	A9	B1	C8
306	A9	B1	C9
307	A9	B2	C1
308	A9	B2	C2
309	A9	B2	C3
310	A9	B2	C4
311	A9	B2	C5

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
312	A9	B2	C6
313	A9	B2	C7
314	A9	B2	C8
315	A9	B2	C9
316	A9	B3	C1
317	A9	B3	C2
318	A9	B3	C3
319	A9	B3	C4
320	A9	B3	C5
321	A9	B3	C6
322	A9	B3	C7
323	A9	B3	C8
324	A9	B3	C9
325	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
326	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C2
327	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
328	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
329	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
330	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
331	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
332	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C8

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
333	A9	CUALQUIERA DE B4-B22	C9
334	A10	B1	C1
335	A10	B1	C2
336	A10	B1	C3
337	A10	B1	C4
338	A10	B1	C5
339	A10	B1	C6
340	A10	B1	C7
341	A10	B1	C8
342	A10	B1	C9
343	A10	B2	C1
344	A10	B2	C2
345	A10	B2	C3
346	A10	B2	C4
347	A10	B2	C5
348	A10	B2	C6
349	A10	B2	C7
350	A10	B2	C8
351	A10	B2	C9
352	A10	B3	C1
353	A10	B3	C2

COMPONENTE DE SEÑALIZACIÓN #	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “C”
354	A10	B3	C3
355	A10	B3	C4
356	A10	B3	C5
357	A10	B3	C6
358	A10	B3	C7
359	A10	B3	C8
360	A10	B3	C9
361	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C1
362	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C2
363	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C3
364	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C4
365	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C5
366	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C6
367	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C7
368	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C8
369	A10	CUALQUIERA DE B4-B22	C9

Tabla 11 – Componentes de direccionamiento ilustrativos:

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
1	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F1	G1
2	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F1	G2
3	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
4	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F2	G1
5	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F2	G2
6	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
7	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F3	G1
8	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F3	G2
9	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
10	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
11	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
12	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
13	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
14	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
15	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
16	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
17	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
18	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
19	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F1	G1
20	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
21	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
22	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F2	G1
23	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F2	G2
24	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
25	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F3	G1
26	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F3	G2
27	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
28	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
29	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
30	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
31	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
32	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
33	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
34	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
35	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
36	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
37	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F1	G1
38	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F1	G2
39	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
40	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F2	G1
41	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
42	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
43	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F3	G1
44	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F3	G2
45	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
46	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
47	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
48	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
49	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
50	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
51	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
52	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
53	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
54	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
55	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
56	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F1	G2
57	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
58	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F2	G1
59	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F2	G2
60	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
61	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F3	G1
62	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
63	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
64	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
65	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
66	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
67	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
68	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
69	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
70	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
71	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
72	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
73	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F1	G1
74	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F1	G2
75	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
76	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
77	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F2	G2
78	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
79	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F3	G1
80	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F3	G2
81	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
82	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
83	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
84	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
85	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
86	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
87	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
88	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
89	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
90	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
91	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F1	G1
92	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F1	G2
93	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
94	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F2	G1
95	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F2	G2
96	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
97	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
98	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F3	G2
99	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
100	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
101	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
102	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
103	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
104	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
105	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
106	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
107	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
108	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
109	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F1	G1
110	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F1	G2
111	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
112	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F2	G1
113	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F2	G2
114	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
115	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F3	G1
116	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F3	G2
117	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
118	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
119	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
120	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
121	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
122	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
123	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
124	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
125	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
126	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
127	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F1	G1
128	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F1	G2
129	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
130	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F2	G1
131	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F2	G2
132	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
133	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F3	G1
134	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F3	G2
135	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
136	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
137	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
138	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
139	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
140	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
141	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
142	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
143	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
144	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
145	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F1	G1
146	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
147	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
148	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F2	G1
149	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F2	G2
150	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
151	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F3	G1
152	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F3	G2
153	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
154	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
155	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
156	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
157	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
158	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
159	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
160	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
161	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
162	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
163	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F1	G1
164	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F1	G2
165	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
166	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F2	G1
167	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
168	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
169	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F3	G1
170	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F3	G2
171	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
172	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
173	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
174	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
175	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
176	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
177	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
178	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
179	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
180	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B1	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
181	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
182	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F1	G2
183	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
184	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F2	G1
185	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F2	G2
186	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
187	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F3	G1
188	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
189	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
190	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
191	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
192	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
193	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
194	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
195	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
196	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
197	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
198	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
199	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F1	G1
200	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F1	G2
201	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
202	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
203	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F2	G2
204	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
205	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F3	G1
206	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F3	G2
207	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
208	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
209	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
210	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
211	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
212	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
213	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
214	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
215	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
216	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
217	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F1	G1
218	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F1	G2
219	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
220	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F2	G1
221	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F2	G2
222	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
223	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
224	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F3	G2
225	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
226	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
227	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
228	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
229	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
230	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
231	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
232	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
233	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
234	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
235	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F1	G1
236	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F1	G2
237	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
238	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F2	G1
239	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F2	G2
240	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
241	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F3	G1
242	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F3	G2
243	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
244	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
245	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
246	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
247	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
248	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
249	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
250	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
251	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
252	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
253	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F1	G1
254	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F1	G2
255	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
256	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F2	G1
257	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F2	G2
258	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
259	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F3	G1
260	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F3	G2
261	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
262	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
263	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
264	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
265	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
266	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
267	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
268	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
269	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
270	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
271	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F1	G1
272	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
273	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
274	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F2	G1
275	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F2	G2
276	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
277	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F3	G1
278	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F3	G2
279	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
280	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
281	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
282	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
283	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
284	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
285	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
286	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
287	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
288	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
289	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F1	G1
290	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F1	G2
291	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
292	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F2	G1
293	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
294	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
295	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F3	G1
296	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F3	G2
297	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
298	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
299	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
300	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
301	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
302	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
303	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
304	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
305	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
306	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
307	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
308	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F1	G2
309	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
310	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F2	G1
311	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F2	G2
312	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
313	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F3	G1
314	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
315	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
316	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
317	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
318	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
319	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
320	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
321	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
322	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
323	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
324	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
325	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F1	G1
326	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F1	G2
327	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
328	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
329	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F2	G2
330	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
331	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F3	G1
332	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F3	G2
333	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
334	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
335	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
336	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
337	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
338	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
339	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
340	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
341	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
342	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
343	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F1	G1
344	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F1	G2
345	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
346	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F2	G1
347	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F2	G2
348	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
349	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
350	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F3	G2
351	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
352	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
353	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
354	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
355	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
356	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
357	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
358	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
359	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
360	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B2	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
361	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F1	G1
362	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F1	G2
363	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
364	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F2	G1
365	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F2	G2
366	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
367	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F3	G1
368	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F3	G2
369	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
370	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
371	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
372	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
373	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
374	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
375	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
376	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
377	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
378	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
379	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F1	G1
380	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F1	G2
381	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
382	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F2	G1
383	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F2	G2
384	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
385	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F3	G1
386	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F3	G2
387	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
388	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
389	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
390	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
391	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
392	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
393	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
394	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
395	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
396	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
397	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F1	G1
398	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
399	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
400	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F2	G1
401	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F2	G2
402	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
403	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F3	G1
404	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F3	G2
405	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
406	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
407	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
408	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
409	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
410	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
411	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
412	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
413	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
414	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
415	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F1	G1
416	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F1	G2
417	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
418	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F2	G1
419	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
420	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
421	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F3	G1
422	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F3	G2
423	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
424	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
425	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
426	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
427	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
428	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
429	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
430	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
431	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
432	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
433	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
434	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F1	G2
435	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
436	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F2	G1
437	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F2	G2
438	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
439	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F3	G1
440	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
441	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
442	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
443	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
444	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
445	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
446	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
447	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
448	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
449	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
450	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
451	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F1	G1
452	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F1	G2
453	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
454	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
455	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F2	G2
456	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
457	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F3	G1
458	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F3	G2
459	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
460	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
461	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
462	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
463	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
464	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
465	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
466	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
467	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
468	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
469	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F1	G1
470	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F1	G2
471	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
472	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F2	G1
473	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F2	G2
474	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
475	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
476	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F3	G2
477	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
478	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
479	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
480	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
481	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
482	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
483	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
484	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
485	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
486	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
487	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F1	G1
488	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F1	G2
489	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
490	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F2	G1
491	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F2	G2
492	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
493	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F3	G1
494	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F3	G2
495	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
496	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
497	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
498	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
499	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
500	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
501	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
502	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
503	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
504	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
505	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F1	G1
506	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F1	G2
507	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
508	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F2	G1
509	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F2	G2
510	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
511	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F3	G1
512	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F3	G2
513	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
514	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
515	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
516	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
517	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
518	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
519	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
520	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
521	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
522	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
523	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F1	G1
524	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
525	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
526	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F2	G1
527	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F2	G2
528	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
529	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F3	G1
530	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F3	G2
531	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
532	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
533	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
534	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
535	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
536	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
537	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
538	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
539	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
540	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	B3	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
541	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F1	G1
542	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F1	G2
543	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
544	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F2	G1
545	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
546	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
547	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F3	G1
548	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F3	G2
549	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
550	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
551	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
552	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
553	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
554	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
555	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
556	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
557	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
558	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A1	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
559	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
560	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F1	G2
561	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
562	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F2	G1
563	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F2	G2
564	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
565	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F3	G1
566	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
567	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
568	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
569	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
570	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
571	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
572	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
573	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
574	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
575	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
576	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A2	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
577	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F1	G1
578	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F1	G2
579	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
580	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
581	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F2	G2
582	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
583	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F3	G1
584	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F3	G2
585	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
586	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
587	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
588	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
589	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
590	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
591	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
592	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
593	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
594	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A3	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
595	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F1	G1
596	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F1	G2
597	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
598	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F2	G1
599	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F2	G2
600	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
601	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
602	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F3	G2
603	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
604	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
605	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
606	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
607	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
608	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
609	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
610	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
611	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
612	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A4	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
613	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F1	G1
614	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F1	G2
615	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
616	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F2	G1
617	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F2	G2
618	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
619	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F3	G1
620	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F3	G2
621	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
622	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
623	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
624	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
625	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
626	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
627	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
628	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
629	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
630	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A5	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
631	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F1	G1
632	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F1	G2
633	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
634	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F2	G1
635	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F2	G2
636	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
637	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F3	G1
638	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F3	G2
639	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
640	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
641	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
642	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
643	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
644	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
645	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
646	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
647	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
648	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A6	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
649	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F1	G1
650	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
651	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
652	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F2	G1
653	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F2	G2
654	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
655	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F3	G1
656	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F3	G2
657	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
658	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
659	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
660	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
661	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
662	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
663	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
664	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
665	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
666	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A7	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
667	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F1	G1
668	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F1	G2
669	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
670	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F2	G1
671	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F2	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
672	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
673	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F3	G1
674	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F3	G2
675	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
676	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
677	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
678	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
679	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
680	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
681	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
682	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
683	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
684	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A8	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
685	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F1	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD “D”	SUBUNIDAD “B”	SUBUNIDAD “A”	SUBUNIDAD “E”	SUBUNIDAD “F”	SUBUNIDAD “G”
686	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F1	G2
687	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
688	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F2	G1
689	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F2	G2
690	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
691	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F3	G1
692	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F3	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
693	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
694	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
695	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2
696	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
697	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
698	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
699	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
700	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
701	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
702	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A9	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
703	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F1	G1
704	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F1	G2
705	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
706	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F2	G1

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
707	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F2	G2
708	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
709	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F3	G1
710	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F3	G2
711	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	E1	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
712	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G1
713	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	G2

COMPONENTE DE DIRECCIONAMIENTO #	SUBUNIDAD "D"	SUBUNIDAD "B"	SUBUNIDAD "A"	SUBUNIDAD "E"	SUBUNIDAD "F"	SUBUNIDAD "G"
714	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F1	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
715	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G1
716	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	G2
717	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F2	UNO CUALQUIERA DE G3-G12
718	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G1
719	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	G2
720	UNO O MÁS CUALESQUIERA DE D1-D28	UNO CUALQUIERA DE B4-B22	A10	UNO CUALQUIERA DE E2-E4	F3	UNO CUALQUIERA DE G3-G12

Como se describe en la presente descripción, los componentes de señalización y direccionamiento que tienen dominios de multimerización emparejados (es decir, un par de dominios de multimerización que se dimerizan/multimerizan en presencia o ausencia de un factor de formación de puentes) pueden combinarse para producir un receptor inmunitario modificado genéticamente funcional. Por ejemplo, un componente de señalización que tiene un dominio de multimerización FRB (por ejemplo, FRB o FRB*) puede combinarse/emparejarse con un componente de direccionamiento que tiene un dominio de multimerización FKBP (por ejemplo, FKBP o FKBP F36V). Como un ejemplo, uno cualquiera de los constructos de señalización 1-81 se combinan con uno cualquiera de los componentes de direccionamiento 37-72, 217-252, 397-432 y 577-612, para producir un novedoso receptor inmunitario modificado genéticamente. Otros pares de multimerización incluyen, pero no se limitan a, CH3_AB (S354C T366W) y CH3_IA (Y349C T366S L368A Y407V); CH3_DE (L351D L368E) y CH3_KK (L351K T366K); y CH3_GA (SEED 1) y CH3_AG (SEED 2).

En varias modalidades, los componentes de señalización y direccionamiento emparejados pueden combinarse como un polipéptido de fusión. Los polipéptidos de fusión ilustrativos se muestran en las SEQ ID NO: 139-170.

Adicionalmente, uno cualquiera de los receptores inmunitarios modificados genéticamente descritos en la presente descripción puede combinarse con un antígeno o receptor de linfocitos modificado genéticamente/exógeno (por ejemplo, TCR, CAR, CCR o receptor de flip).

Un experto en la técnica comprenderá que son posibles otras combinaciones, que incluyen combinaciones que usan otros dominios de multimerización, enlazadores polipeptídicos, dominios accionadores, dominios de direccionamiento, dominios bisagra,

dominios transmembrana, dominios intracelulares, y receptores de antígeno exógenos, ya sea conocidos o desarrollados como nuevos por el experto en la técnica.

5 En general, en las siguientes reivindicaciones, los términos usados no deben interpretarse para limitar las reivindicaciones a las modalidades específicas descritas en la descripción y las reivindicaciones, sino que debe interpretarse que incluyen todas las modalidades posibles junto con el alcance completo de los equivalentes a los que tienen derecho tales reivindicaciones. En consecuencia, las reivindicaciones no se limitan por la
10 descripción.