

COMPOSICIONES DE RECEPTOR DE CÉLULAS T EN MULTIPLEX, TERAPIAS COMBINADAS, Y SUS USOS

Referencia a solicitudes relacionadas

Esta solicitud invoca el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de los EE.UU. No. de Acta 63/337.522, presentada el 02 de mayo de 2022; Solicitud Provisional de los EE.UU. No. de Acta 63/342.451, presentada el 16 de mayo de 2022; Solicitud Provisional de los EE.UU. No. de Acta 63/413.553, presentada el 05 de octubre de 2022; y de la Solicitud Provisional de los EE.UU. No. de Acta 63/423.269, presentada el 07 de noviembre de 2022; en donde el contenido de cada una de las solicitudes se incorpora en su totalidad a la presente a modo de referencia.

Síntesis de la invención

La presente invención se basa, por lo menos en parte, en el descubrimiento de ciertas proteínas de unión, que incluyen receptores de célula T (TCR), que combinados reconocen más de un antígeno (por ejemplo, más de un antígeno en la misma diana y/o más de un antígeno en dianas diferentes), y células modificadas que los comprenden, que pueden superar la heterogeneidad antigénica y/o la pérdida de heterocigosidad del antígeno leucocitario humano (HLA) para tratar cánceres, que incluyen tumores sólidos. Por ejemplo, la transferencia adoptiva de células (ACT) con células T modificadas genéticamente es una gran promesa para tratar cánceres, tales como tumores sólidos, pero al estar dirigidas solo a un antígeno por vez, las respuestas completas han sido poco frecuentes y generalmente de corta duración debido a la expresión heterogénea de antígenos asociados al cáncer y la pérdida de heterocigosidad de HLA. La terapia de células T-TCR en multiplex (T-TCR) contra múltiples dianas diferentes y/o moléculas de HLA mimetiza la respuesta de células T oligoclonal natural contra el cáncer y provee una manera de abordar algunos de los principales desafíos asociados con la resistencia a la terapia adoptiva de células. A modo de ejemplo representativo no limitante, se logró citotoxicidad sinérgica usando dos TCR dirigidos contra cultivos de células tumorales mezcladas con expresión de antígenos heterogéneos. La presencia de un par T-TCR/célula diana mejoró la actividad del otro T-TCR contra su diana; este efecto fue mediado por factores solubles secretados. Los resultados demuestran que el uso de receptores de células T en multiplex y composiciones relacionadas (por ejemplo, células T-TCR en multiplex) pueden superar la heterogeneidad antigénica no solo mediante el direccionamiento independiente a diferentes células diana en el mismo tumor, sino también mediante la potenciación mediada por citoquinas de cada respuesta de célula T. Sorprendentemente, estos resultados demuestran además un efecto sinérgico inesperado.

Descripción breve de las figuras

En las Figura 1A a Figura 1C se muestra que la heterogeneidad inter e intratumoral de la expresión de la diana es un desafío clínico para la terapia con células T que expresan un TCR terapéutico (T-TCR). Se proveen ejemplos de expresión de antígeno variable inter e intratumoral en muestras de tumor de melanoma de humano. Se realizó inmunohistoquímica en microarreglos de tumor de melanoma de humano usando anticuerpos específicos contra PRAME (rosa) y anticuerpos específicos contra MAGEC2 (azul). Se observó expresión heterogénea de antígenos en el tumor en múltiples secciones como se representa en la Figura 1A así como secciones dominadas por la presencia de un antígeno individual (Figuras 1B y 1C) con grados variables de expresión.

En la Figura 2A y Figura 2B se muestra que la pérdida de heterocigosidad de HLA (LOH) es habitual y destaca la necesidad de una terapia con células T-TCR en multiplex. En la Figura 2A se muestran los resultados de un análisis de LOH de HLA no limitante, representativo, de muestras de cáncer de pulmón de células no pequeñas que demuestra la amplia prevalencia de LOH clonal y parcial del alelo HLA-A*02:01. En la Figura 2B se muestra que la monoterapia con T-TCR con frecuencia lleva a respuestas parciales y recaída rápida, parcialmente debido a la heterogeneidad antigénica diana o HLA. Se ha desarrollado un abordaje de en multiplex y se describe en la presente para abordar este punto, mejorando de esta manera la remisión a largo plazo.

En la Figura 3A y Figura 3B se provee un abordaje en multiplex representativo, no limitante para superar la heterogeneidad de dianas y se muestra que las células T-TCR en multiplex tienen actividad antitumoral sinérgica. En la Figura 3A se muestran los resultados de líneas celulares Incucyte® VPH+ marcadas con NucLightRed (CaSki) y MAGEA1+ (A101D) cultivadas en presencia de VPH16 E7-T-TCR, MAGEA1-T-TCR, o una combinación de ambas T-TCR. El crecimiento de las células se evaluó usando el análisis Incucyte® durante un periodo de tres días. En la Figura 3B se muestra que se observaron resultados de citotoxicidad sinérgica entre los dos TCR calculado como % supervivencia celular a las 72 horas.

En las Figura 4A a Figura 4C se muestra además que las células T-TCR en multiplex tienen actividad antitumoral sinérgica debido a la potenciación mediada por citoquinas. En la Figura 4A se muestra un esquema de modelado de la variabilidad de la expresión de diana intratumoral usando dos líneas celulares diferentes. En la Figura 4B se muestran los resultados de un cocultivo de células T que expresan un TCR específico contra MAGEA1 y una línea de célula diana con alta expresión de MAGEA1 (A2058) que potencia la citotoxicidad de células T que expresan un TCR anti-MAGEC2 contra una línea de células con expresión moderada de MAGEC2 (SKMEL5). En la Figura 4C se muestra que ese aumento en la citotoxicidad es dirigido por factores solubles secretados por las

células T dirigidas contra MAGEA1, que lleva a una activación aumentada de las células T dirigidas contra MAGEC2, como se muestra en el experimento Transwell ilustrativo que se describe.

En la Figura 5A y Figura 5B se provee una estrategia de cribado representativa, no limitante para seleccionar pacientes y T-TCR y además ilustra una estrategia de Banco Inmunológico (*ImmunoBank*) que permite el multiplexado personalizado de las células T-TCR. En la Figura 5A se muestra una estrategia de cribado ilustrativa para seleccionar pacientes y T-TCR para una terapia con células T-TCR en multiplex. Luego de la genotipificación de HLA de la línea germinal, los tumores de los pacientes se evaluaron para determinar la expresión de la diana usando uno de varios métodos bien conocidos, tal como inmunohistoquímica (IHC) o hibridización de ARN *in situ* (ISH). Las muestras de tumor también pueden ser evaluadas para determinar la LOH de HLA mediante secuenciación genómica. Si se observa LOH, se seleccionan los T-TCR que están dirigidos contra 2 HLA diferentes en el brazo del cromosoma intacto. Si no se observa LOH, se seleccionan los T-TCR que están dirigidos contra HLA dianas en los cromosomas opuestos. En la Figura 5B se muestra que las terapias con T-TCR personalizadas para los pacientes con cáncer individual podrían beneficiarse con la construcción de un Banco inmunológico de TCR terapéuticos que reconozcan diferentes dianas (en columnas) presentados en diferentes alelos de HLA (en columnas). Por el multiplexado de diferentes dianas y HLA, esta estrategia está diseñada para prevenir la resistencia que surge por la pérdida de diana o LOH de HLA.

En la Figura 6 se provee un resumen de datos de un ejemplo representativo de células T con TCR terapéuticos en multiplex que abordan la heterogeneidad intratumoral con dos terapias con T-TCR dirigidos contra antígenos en un HLA individual. Se evaluó la expresión heterogénea de las proteínas asociadas al cáncer MAGE-A1 y PRAME mediante inmunohistoquímica usando anticuerpos específicos contra MAGE-A1 y PRAME. Se usó un TCR líder específico para un epítipo derivado de MAGE-A1 presentado en HLA-A*02:01 y un TCR líder específico para un epítipo derivado de PRAME presentado en HLA-A*02:01. Los TCR presentaron una alta potencia *in vitro* e *in vivo* y se mostraron altamente selectivos para sus respectivas dianas de péptido/MHC. La Figura demuestra además el valor de la combinación del TCR específico para MAGE-A1 y el TCR específico para PRAME para abordar un modelo tumoral hecho de una mezcla de células HEK293T que expresan MAGE-A1 o PRAME positivas para HLA-A*02:01, tanto *in vitro* como *in vivo*. Los dos subconjuntos de célula diana se marcaron con rótulos fluorescentes para permitir el análisis por citometría de flujo. Las células HEK293T usadas también contienen reportero de la proteína fluorescente en infrarrojo (IFP) activada por granzima B para permitir que las células alcanzadas por un TCR se vuelvan fluorescentes. Mientras que el uso de un TCR único es subóptimo ya que solo se direcciona contra una fracción de las células tumorales, no reaccionando con el subconjunto de células que no pueden ser reconocidas por el TCR, la combinación de los dos TCR da como resultado la muerte de ambos subconjuntos de células cancerosas en forma simultánea.

Acumulando TCR potentes y terapéuticamente selectivos que reconocen diferentes epitopes de múltiples proteínas asociadas a cáncer y se direccionan a diferentes alelos HLA en un Banco Inmunológico de TCR terapéuticos, se permiten decisiones de tratamiento en base a la biología del tumor del paciente para crear combinaciones personalizadas de TCR.

En la Figura 7 se muestra una imagen representativa del mecanismo de acción terapéutico de las células T-TCR en multiplex.

En la Figura 8A a la Figura 8E se muestra una estrategia de selección representativa de citometría de flujo para determinar la muerte mediada por células T-TCR. Se cocultivaron tres lotes representativos de células T-TCR TSC-204-A0201 o TSC-204-C0702 en singleplex y T-Plex-204-A0201/C0702 en multiplex con una población de células diana que consistía en una mezcla balanceada de U266B1 noqueadas para HLA-A*02:01 (“Dianas de C7”, marcadas con CFSE) y U266B1 noqueadas para HLA-C*07:02 (“Dianas de A2”, marcadas con Violeta CellTrace™) durante ~20 horas. Las células residuales de los diferentes subconjuntos (efectoras, Dianas de A2 y Dianas de C7) en el cocultivo se analizaron para evaluar la viabilidad celular por citometría de flujo (se muestran datos representativos obtenidos con células T-TCR T-Plex-204-A0201/C0702 de un lote representativo). Se seleccionaron las células a partir del gráfico de puntos de FSC-A versus SSC-A (Figura 8A) y se distinguieron las subpoblaciones usando el gráfico de CellTrace™ CFSE versus Violeta CellTrace™ (Figura 8B). Las células viables de cada subpoblación se identificaron en los histogramas de los eventos versus LIVE/DEAD™ (Figuras 8C-8E).

En la **Figura 9** se muestra una imagen representativa de la viabilidad de las células diana en un modelo tumoral heterogéneo (U266B1 HLA-A*02:01 KO combinadas con U266B1 HLA-C*07:02 KO) cocultivadas con células T-TCR en singleplex (TSC-204-A0201 o TSC-204-C0702) o en multiplex (T-Plex-204-A0201/204-C0702). Las células diana U266B1 HLA-C*07:02 KO y U266B1 HLA-A*02:01 KO se marcaron con código de barras fluorescente, se designó a una alícuota de cada una como control, y luego se combinó el resto para crear una diana heterogénea balanceada. Se cocultivaron tres lotes de agente de célula T-TCR individual (“en singleplex”), TSC-204-A0201 o TSC-204-C0702, y en multiplex, células T-TCR T-Plex-204-A0201/C0702 con las células diana heterogéneas o las células diana individuales solamente (control). Se determinó la cantidad de célula diana con código de barras y su viabilidad mediante análisis de citometría de flujo. El recuento de células viables de cada diana se normalizó al recuento absoluto de esferas y luego se graficó. De igual manera, se graficó el porcentaje de viabilidad de cada diana para determinar la muerte mediada por T-Plex. El recuadro izquierdo de cada par de datos recuadrados representa los datos de las células U266B1 HLA-C7 KO y el recuadro derecho de cada par de datos recuadrados representa los datos de las células U266B1 HLA-A2 KO.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa, por lo menos en parte, en el descubrimiento de que ciertas proteínas de unión, incluyendo receptores de célula T (TCR), que en combinación reconocen más de un antígeno (por ejemplo, más de un antígeno en la misma diana y/o más de un antígeno en diferentes dianas), y células modificadas por ingeniería que comprenden los mismos, pueden superar la heterogeneidad antigénica y/o la pérdida de heterocigosidad de los antígenos leucocitarios humanos (HLA) para tratar cánceres, que incluyen tumores sólidos.

En consecuencia, la presente invención se relaciona, en parte, con las proteínas de unión identificadas (por ejemplo, TCR), células huéspedes que expresan las proteínas de unión (por ejemplo, TCR), composiciones que comprenden las proteínas de unión (por ejemplo, TCR) y células huéspedes que expresan las proteínas de unión (por ejemplo, TCR), métodos de diagnóstico, pronóstico, y monitoreo de la respuesta de células T contra células que expresan los antígenos y/o las dianas de interés, y con métodos para prevenir y/o tratar un trastorno no maligno, un trastorno hiperproliferativo, o una recaída de un trastorno hiperproliferativo que se caracteriza por la expresión de los antígenos y/o dianas de interés mediante la administración de dos o más proteínas de unión en forma directa o composiciones que las proveen, tal como una composición individual que comprende dos o más proteínas de unión, una composición individual que comprende ácidos nucleicos y/o vectores que codifican para dos o más proteínas de unión (por ejemplo, TCR), una composición individual que comprende un tipo de célula huésped que expresa dos o más proteínas de unión (por ejemplo, TCR), una combinación de dos o más composiciones en donde cada una comprende por lo menos una proteína de unión (por ejemplo, TCR), una combinación de dos o más composiciones en donde cada una comprende un ácido nucleico y/o vector que codifica para por lo menos una proteína de unión (por ejemplo, TCR), una combinación de dos o más composiciones en donde cada una comprende una célula huésped que expresa por lo menos una proteína de unión (por ejemplo, TCR), y similares. La administración puede ser mediante una composición individual o bien una combinación de composiciones, ya sea en forma concurrente o secuencial. Las dos o más proteínas de unión pueden ser 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, o más proteínas de unión, o cualquier rango intermedio, inclusive, tal como entre 2 y 5 proteínas de unión, entre 2 y 4 proteínas de unión, entre 2 y 3 proteínas de unión, etc. En algunas formas de realización, los sujetos adecuados se seleccionan usando un paso activo de análisis de la expresión de genes diana, pérdida de heterocigosidad de HLA (LOH), y/o tipificación de HLA para determinar su compatibilidad con la unión de TCR a complejos deseados de MHC:péptido (pMHC) y la eficacia terapéutica deseada. En la presente se ejemplifican numerosas combinaciones representativas no limitantes y cualquier combinación de cualquier agente descrito en la presente se consideran como una composición contemplada junto a sus usos, y está abarcada por la presente invención.

Más aún, como se describe adicionalmente más adelante y en los ejemplos, una célula huésped abarcada por la presente invención puede codificar y/o expresar proteínas accesorias útiles

además de una proteína de unión como se describe en la presente, ya sea en el mismo polinucleótido o bien en diferentes polinucleótidos como proteína de unión o componentes de la misma. Por ejemplo, la célula huésped puede codificar y/o expresar TCR α , TCR β , CD8 α , CD8 β , un DN-TGF β R (por ejemplo, un DN-TGF β RII), y/o un marcador de proteína de selección, en donde el marcador de proteína de selección opcionalmente es DHFR.

El término “receptor de TGF β dominante negativo” o “DN-TGF β R” se refiere a una variante o mutante de factor de crecimiento transformante (TGF) beta que provee resistencia contra la señalización del TGF β . Existen cinco receptores de tipo II (receptores de activación) y siete receptores de tipo I (receptores de propagación de la señalización). El receptor de TGF β activo es un heterotetrámero que consiste en dos receptores TGF β I (TGF β RI) y dos receptores TGF β II (TGF β RII). En algunas formas de realización, el DN-TGF β R es un DN-TGF β RII (es decir, una variante o mutante de receptor de TGF beta II). En algunas formas de realización, la resistencia es contra el efecto supresor de la señalización del TGF β en una célula inmunológica, tal como una célula T, en donde el TGF β puede ser producido por células cancerosas o por otras células inmunológicas dentro de un ambiente celular, tal como por células estromales, macrófagos, células mieloides, células epiteliales, células asesinas naturales, y similares. Los inhibidores de la señalización de TGF β son bien conocidos en el arte e incluyen, a título enunciativo no taxativo, el TGF β mutante que secuestra los receptores y de esa manera inhibe la señalización, anticuerpos que se unen a TGF β y/o a los receptores de TGF β (por ejemplo, lerdelimumab, metlimumab, fressolimumab, y similares), proteínas de unión a TGF β soluble tales como partes de receptores de TGF β que secuestran a TGF β (por ejemplo, las proteínas de fusión TGF β RII-Fc) u otros unidores, tales como los beta glicanos. Cualquiera y todos los inhibidores conocidos de la señalización de TGF β pueden ser usados en lugar de, o además del DN-TGF β R (por ejemplo, DN-TGF β RII) que se describe en la presente. En algunas formas de realización, un DN-TGF β R carece de una parte intracelular requerida para la señalización mediada por TGF β , tal como el dominio intracelular completo, un dominio de señalización de quinasas, etc. Las construcciones de DN-TGF β R son bien conocidas en el arte (véanse las formas de realización representativas no limitantes de Brand y *col.* (1993) *J. Biol. Chem.* 268:11500-11503; Weiser y *col.* (1993) *Mol. Cell Biol.* 13:7239-7247; Bollard y *col.* (2002) *Blood* 99:3179-3187; Publicación PCT WO 2009/152610; Publicación PCT WO 2017/156484; Kloss y *col.* (2018) *Mol. Ther.* 26:1855-1866; Publicación PCT WO. 2019/089884; Publicación PCT WO 2020/042647; y Publicación PCT WO 2020/042648.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Materiales y métodos para el Ejemplo 2

- a. Multiplexado de TCR anti-VPH y MAGE-A1

(i) Modificación de células T para que expresen TCR específicos para VPH16-E7₁₁₋₁₉ o MAGE-A1₂₉₀₋₂₉₇

Se aislaron células T CD3⁺ primarias de Leukopaks usando el kit StraightFrom® Leukopak® CD3 Microbead (Miltenyi Biotec) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las células aisladas se congelaron en CryoStor® CS10 (Stem Cell Technologies) y se almacenaron en nitrógeno líquido hasta su uso. En el día -1, las células T CD3⁺ se descongelaron, se lavaron con medio completo para células T (RPMI 1640 suplementado con 10% de suero bovino inactivado con calor (FBS), 100 IU/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina, IL-2 humana recombinante [50 U/mL, PeproTech, Cranbury, NJ], IL-15 humana recombinante [5 ng/mL, R&D Systems], e IL-7 humana recombinante [5 ng/mL, (R&D Systems)]). En el día 0, las células T CD3⁺ se lavaron y se resuspendieron en medio fresco para células T y se activaron usando el activador para células T CD3/CD28/CD2 humanas ImmunoCult™ (5 µL/1x10⁶ células T CD3⁺, Stem Cell Technologies). En el día 1, las células se lavaron y se resuspendieron en medio completo fresco para células T, y se plaquearon a 1x10⁶ células por pocillo. Se transdujeron pocillos triplicados con partículas lentivirales para expresar TCR anti-VPH o bien MAGE-A1. En el día 2, las células se lavaron, se resuspendieron los triplicados y se combinaron en medio completo fresco para células T, y se expandieron hasta el día 5 en 1 pocillo de una placa de 6 pocillos G-Rex® (Wilson Wolf). En el día 5, las células se cosecharon, y se ajustaron las concentraciones de células a 100x10⁶ células T CD3⁺/mL en solución amortiguadora EasySep (StemCell Inc) y solución FcBlock con esferas magnéticas con CD34 (Miltenyi) durante 30 minutos a 4°C, se lavaron con solución amortiguadora EasySep, y se separaron usando un QuadroMACS® Separator y columnas LS (Miltenyi). Las células aisladas se lavaron y se resuspendieron en medio completo fresco para células T y se expandieron en botellas G-Rex®10 (Wilson Wolf) hasta el día 12, punto en el cual las células se congelaron en CryoStor® CS10 y se almacenaron en nitrógeno líquido hasta su uso.

b. Mutiplexado de TCR anti-MAGE-C2 y MAGE-A1

(i) Modificación de células T para que expresen TCR anti-MAGE-C2₁₈₄₋₁₉₂ o MAGE-A1₂₉₀₋₂₉₇

Se aislaron células T CD8⁺ primarias usando el StraightFrom® Leukopak® CD8 Microbead Kit (Miltenyi Biotec) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las células aisladas se congelaron en CryoStor® CS10 (Stem Cell Technologies) y se almacenaron en nitrógeno líquido hasta su uso. En el día -1, las células T CD8⁺ se descongelaron, se lavaron con medio completo para células T (RPMI 1640 suplementado con 10% de suero bovino inactivado con calor (FBS), 100 IU/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina, IL-2 humana recombinante [50 U/mL, PeproTech, Cranbury, NJ], IL-15 humana recombinante [5 ng/mL, R&D Systems], e IL-7 humana recombinante [5 ng/mL, (R&D Systems)]). En el día 0, las células T CD8⁺ se lavaron y se resuspendieron en medio fresco para células T y se activaron usando el activador para células T CD3/CD28/CD2 humanas ImmunoCult™ (5 µL/1x10⁶ células T CD8⁺, Stem Cell Technologies). En

el día 1, las células se lavaron y se resuspendieron en medio completo fresco para células T, y se plaquearon a 1×10^6 células por pocillo en 9 pocillos. Cada pocillo se transdujo con partículas lentivirales para expresar MAGE-C2 o bien MAGE-A1 por triplicado o se mantuvo como control donante no transducido. En el día 2, las células se lavaron, se combinaron los triplicados, y se resuspendieron en medio completo fresco para células T y se expandieron hasta el día 5 en placas de 6 pocillos G-Rex® (Wilson Wolf). En el día 5, las células se cosecharon, y se ajustaron las concentraciones de células a 100×10^6 células T CD8+/mL en solución amortiguadora de corrida MACS® (Miltenyi) y se agregó anticuerpo anti-mTCR biotina (BioLegend) a una dilución 1:50 durante 10 minutos a temperatura ambiente, luego se lavaron con solución amortiguadora de corrida MACS®. Se agregaron las microesferas anti-biotina (Miltenyi) a una dilución de 1:5 y se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se lavaron las células con solución amortiguadora de corrida MACS® y se resuspendieron en solución amortiguadora de corrida MACS® para la separación magnética manual usando un QuadroMACS® Separator y columnas LS (Miltenyi). Las células aisladas se lavaron y se resuspendieron en medio completo fresco para células T y se expandieron en botellas G-Rex®10 (Wilson Wolf) hasta el día 12, punto en el cual las células se congelaron en CryoStor® CS10 y se almacenaron en nitrógeno líquido hasta su uso.

(ii) Líneas celulares

Se adquirió la línea celular de carcinoma epidermíode CaSki (ATCC CRL-1550) y las líneas celulares de melanoma A101D (ATCC CRL-7898), SK-MEL-5 (ATCC HTB-70), y A2058 (ATCC CRL-11147) en Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, Manassas, VA). Las células CaSki se cultivaron en RPMI 1640 que contenía 10% de FBS inactivado por calor y 1% de penicilina-estreptomicina [Thermo Fisher Scientific]. Las células A101D y A2058 se mantuvieron en DMEM que contenía 10% de FBS inactivado por calor y 1% de penicilina-estreptomicina [Thermo Fisher Scientific] y las células SK-MEL-5 se cultivaron en EMEM que contenía 10% de FBS inactivado por calor y 1% de penicilina-estreptomicina [Thermo Fisher Scientific].

(iii) Generación de líneas celulares estables que expresan Incucyte® Nuclight Red

Las células CaSki, A101D, y SK-MEL-5 se transdujeron con Incucyte® Nuclight Red Lentivirus Reagent (promotor EF-1 α , selección con puromicina) (Sartorius). 24 horas después de la transducción, las células se lavaron y se resuspendieron en su respectivo medio de cultivo celular y se cultivaron a 37°C, con 5% de CO₂. 2 a 3 días después de la transducción, se agregó puromicina (Gibco, Waltham, MA) a los cultivos a una concentración predeterminada (en el rango entre 0,5 ug/mL y 1 ug/mL) para seleccionar las células transducidas. Los cultivos se expandieron con selección con puromicina hasta ser al menos 90% positivos para Incucyte® Nuclight Red de acuerdo con la determinación por análisis de citometría de flujo.

(iv) Ensayo de citotoxicidad in vitro

Los ensayos de citotoxicidad *in vitro* se llevaron a cabo en placas de cultivo celular de fondo plano de 96 pocillos sin recubrimiento con poli-L-ornitina; aquí se plaquearon las células adherentes y se dejaron adherir hasta el día antes de agregar las células T. En los puntos indicados, se cocultivaron las células T con las células CaSki, A101D, o SK-MEL-5 que expresan Incucyte® Nuclight Red a las proporciones indicadas de E:T. Se adquirieron los datos en un instrumento Incucyte® S3 (Sartorius), y se cuantificó el crecimiento de las células diana en el Incucyte® S3 como una medida de la citotoxicidad de las células T.

(v) Ensayo de activación de células T por Transwell

Se usaron insertos Corning® HTS Transwell®-96 Permeable Support con membrana de policarbonato de poros de 1,0 µm (Sigma-Aldrich #CLS3392) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células de melanoma A101D se sembraron en la cámara superior, mientras que las células de melanoma SK-MEL-5 se sembraron en la cámara inferior y ambas líneas se dejaron adherir durante una noche. Al día siguiente, se cocultivaron las células T CD8+ modificadas con el TCR anti-MAGEA1 con las células A101D en la cámara superior, mientras que las células T CD8+ modificadas con el TCR anti-MAGEC2 se cocultivaron con las células SK-MEL-5 en la cámara inferior en una proporción E:T de 1:2 y se incubaron durante 48 horas con 5% de CO₂ a 37°C. Después de la incubación, se recolectaron las células para su evaluación mediante tinción con anticuerpos contra los marcadores de activación de células T. En resumen, las células T se tiñeron con anti-CD137 marcado con PE y anti-CD69 marcado con AF647 (BioLegend), se lavaron y luego se analizaron para evaluar las células doble positivas para CD137 y CD69 en un citómetro de flujo CytoFLEX (Beckman Coulter).

Ejemplo 2: ejemplo representativo no limitante de terapia combinada

La transferencia celular adoptiva con células T genéticamente modificadas representa una gran promesa para tratar tumores sólidos. Hasta la fecha, las investigaciones clínicas de terapias con células T modificadas con TCR se han dirigido a un antígeno por vez y han producido tasas de respuesta alentadoras en el rango entre 30 y 50%. Desafortunadamente, las respuestas completas han sido poco frecuentes, y las respuestas con frecuencia son de corta duración. Se cree que hay dos desafíos principales asociados con la terapia con células T-TCR dirigida a un solo antígeno.

Primero, la expresión de la mayoría de los antígenos asociados a cáncer es heterogénea. En un ejemplo representativo no limitante, se llevó a cabo una inmunohistoquímica en multiplex con MAGE-C2 y PRAME, dos antígenos de línea germinal de cáncer, y se observó una considerable heterogeneidad entre las muestras de diferentes tipos de tumor sólido (Figuras 1A-1C). Además, se observó una expresión antigénica heterogénea a nivel de célula individual, no cada célula cancerosa dentro de un tumor dado expresó cada antígeno (Figuras 1A-1C). Esto indica que un único TCR puede no ser suficiente para eliminar todas las células cancerosas de un tumor dado, permitiendo

de esa manera que las células tumorales que carecen del antígeno relacionado con el tratamiento escapen y produzcan una recaída.

Segundo, la terapia con células T-TCR de agente único se dirige solo a un alelo HLA único, el cual sufre pérdida a través de los comúnmente observados mecanismos de pérdida de heterocigosidad de HLA (LOH) (Figuras 2A y 2B). Se ha observado LOH de HLA de Clase I clonal en el 17% de todos los tumores sólidos (Montesion y col., Cancer Discovery, 2021) y ocurre una LOH de HLA subclonal en un porcentaje incluso mayor de los tumores.

La terapia en multiplex con células T-TCR imita la respuesta oligoclonal natural de células T contra el cáncer y provee una manera para abordar ambos desafíos asociados con el tratamiento de tumores sólidos.

Usando las plataformas patentadas de TSScan *ReceptorScan* y *TargetScan*, se descubrió una variedad de TCR, tales como TCR específicos para VPH16 E7, específicos para MAGEA1 y específicos para MAGEC2 para la terapia con células T-TCR.

En un ejemplo representativo no limitante, dos TCR líderes (para MAGE-A1 y VPH), un TCR de baja afinidad (MAGE-C2), y líneas celulares diana que expresan sus antígenos asociados, se multiplexaron usando experimentos de cocultivo directo e indirecto para evaluar el sinergismo potencial del uso de más de un TCR para direccionarse contra los tumores así como también para comprender los mecanismos biológicos detrás de dicho sinergismo. Los materiales y métodos, así como los resultados, se muestran en las Figuras 1A-5B. En resumen, se usaron dos pares distintos de TCR:antígeno para modelar la muerte celular mediada por células T en multiplex y la heterogeneidad *in vitro*. Además, el vector usado para generar los datos que se muestran en la Figura 3 expresa un correceptor CD8, mientras que el vector que se usó para generar los datos que se muestran en la Figura 4 no expresaba ningún correceptor CD8, aunque el mismo tiene la región constante del TCR de ratón.

En un caso representativo, se ensayó el multiplexado de dos T-TCR de alta afinidad (es decir, uno con el nombre TCR E7-11-28 (también conocido como TCR28 o 28; véase la Tabla 1) dirigido contra un epítopo restringido a HLA-A*02:01 de VPH16-E7 y el segundo con el nombre TCR-204-C07 (también conocido como TCR 32-41, TCR-204-C7 y TCR-204-C0702; véase la Tabla 1) dirigido contra un epítopo restringido a HLA-C*07:02 de MAGE-A1. Se transdujeron células Pan-T y se seleccionaron para expresar los TCR relevantes (VPH o MAGE-A1) y, en algunos casos, un correceptor CD8. Las células diana fueron una mezcla de dos líneas celulares, cada una expresando solo uno de los dos antígenos. Las células de cáncer de cuello uterino CaSki son A*02:01+ y VPH+. Las células de melanoma A101D son C*07:02+ y MAGE-A1+. Ambas líneas celulares se modificaron genéticamente para expresar Incucyte®NucLight Red y se mezclaron para mimetizar la heterogeneidad tumoral. Las células T modificadas o las células T control del donante no modificadas (T-TCR Control) se cocultivaron con líneas celulares diana marcadas con Incucyte®

NucLight Red en las proporciones indicadas de célula efectora a célula diana (E:T), y se cuantificó su supervivencia en un IncuCyte® como una lectura de la citotoxicidad de las células T. Si bien los T-TCR individuales provocaron entre un 50 y 60% de muerte celular a las 72 h, una mezcla 1:1 de los dos T-TCR produjo aproximadamente un 80% de muerte celular para las mismas proporciones de efectora a diana (E:T), indicando un efecto sinérgico (Figuras 3A y 3B).

En otro caso representativo, se ensayó el multiplexado de T-TCR de alta afinidad para MAGE-A1 con un T-TCR de baja afinidad para MAGE-C2. El TCR-204-C07 (también conocido como TCR 32-41, TCR-204-C7 y TCR-204-C0702; véase la Tabla 1) es de origen natural, un TCR de alta afinidad que reconoce un epítipo restringido a HLA-C*07:02 de MAGEA1 y exhibe una muerte robusta de las líneas celulares que expresan MAGEA1. El TCR-LD8-3 es un TCR de baja afinidad que reconoce un epítipo restringido a HLA-B*07:02 de MAGEC2 (también conocido como TCR 8-3; véase la Tabla 1) (Figura 4A). Se usaron vectores lentivirales que codifican para TCR con optimización de codones de HM para la mejor expresión para transducir células T CD8+. Se seleccionaron las células transducidas en base a la expresión de los TCR relevantes (MAGE-A1 o MAGE-C2). Las células diana eran una mezcla de células que expresaban MAGE-A1 o MAGE-C2. Las células A2058 y SK-MEL-5 son ambas líneas celulares de melanoma que son ambas C*07:02+ y B*07:02+, sin embargo las células A2058 solo expresan de manera elevada a MAGE-A1 y las células SK-MEL-5 solo expresan de manera moderada a MAGE-C2. Se encontró previamente que, a pesar de que las células T MAGE-C2-TCR matan de manera eficaz a las células A101D que expresan MAGEC2 en niveles elevados, son ineficaces para matar a las células SK-MEL-5, que expresan MAGEC2 en bajos niveles. Para determinar si la actividad citotóxica de las células T MAGE-C2-TCR se potencia cuando se usan en multiplex con un TCR más citotóxico, se realizó un experimento de cocultivo. Las células SK-MEL-5 modificadas para expresar IncuCyte® NucLight Red se mezclaron junto con células A2058 sin marcar de manera que la actividad cuantificada en un IncuCyte® reflejara solo la citotoxicidad contra las células SK-MEL-5. Se cocultivaron células T modificadas o células T control del donante sin modificar (células T no transducidas) con líneas celulares diana en las proporciones indicadas de célula efectora a célula diana (E:T), y se cuantificó su supervivencia en un IncuCyte® como una lectura de la citotoxicidad de las células T. Si bien se observó un nivel bajo de muerte de SK-MEL-5 por las células T MAGE-C2, cuando se combinaron las células T MAGE-C2 y MAGE-A1, la actividad citotóxica del TCR contra MAGE-C2 se potenció de manera sinérgica. Por lo tanto, a pesar de que el T-TCR contra MAGE-C2 produjo una muerte parcial de las células positivas para MAGE-C2, el agregado del T-TCR contra MAGE-A1 aumentó de manera sinérgica la actividad del T-TCR contra MAGE-C2 (Figura 4B).

Para explorar el mecanismo de esta actividad sinérgica, se usó un sistema Corning® HTS Transwell®. Se seleccionó un soporte permeable HTS Transwell-96 con un sistema transwell con membrana de poliéster con poro de 1,0 µm para permitir la difusión de los factores solubles, pero no

de las células, entre los dos compartimientos celulares; una cámara superior y una cámara inferior. Las células de melanoma A101D se sembraron en la cámara superior mientras que las células de melanoma SK-MEL-5 se sembraron en la cámara inferior y ambas líneas se dejaron adherir durante una noche. Al día siguiente, las células T CD8+ modificadas con el TCR anti-MAGEA1 se cocultivaron con las células A101D en la cámara superior mientras que las células T CD8+ modificadas con el TCR anti-MAGEC2 se cocultivaron con las células SK-MEL-5 en la cámara inferior en una proporción de E:T 1:2. Después de 48 horas, las células de cada cámara se recolectaron para su evaluación mediante tinción con anticuerpos dirigidos contra los marcadores de activación de células T. En resumen, las células T se tiñeron con anti-CD137 marcado con PE y anti-CD69 marcado con AF647 (BioLegend), se lavaron y luego se analizaron para evaluar las células doble positivas para CD137 y CD69 en un citómetro de flujo CytoFLEX (Beckman Coulter). Usando el sistema de cocultivo transwell, se encontró que las citoquinas secretadas por los T-TCR contra MAGE-A1 aumentaron fuertemente la activación de las células T de las células T MAGE-C2-TTCR al unirse al antígeno (Figura 4C). Estos hallazgos indican que las células T-TTCR en multiplex pueden superar la heterogeneidad antigénica no solo mediante el direccionamiento independiente a las diferentes poblaciones de células cancerosas, sino también por potenciación de las células T mediada por citoquinas. Sorprendentemente, estos resultados demuestran un efecto sinérgico inesperado.

Estos resultados han sido adaptados para aplicaciones clínicas. Por ejemplo, con el objetivo de abordar la heterogeneidad de los tumores sólidos en la clínica, se diseñó una estrategia de cribado ilustrativo para ensayar tumores de pacientes para la positividad de antígeno y LOH de HLA (Figura 5A). También un Banco Inmunológico de TCR terapéuticos que reconocen diferentes dianas presentadas en diferentes alelos de HLA. La selección de células T-TTCR en multiplex dirigidas contra antígenos intactos y alelos de HLA en tumores de pacientes se cree que vencen de manera sinérgica la heterogeneidad de los tumores sólidos. Se están realizando estudios *in vivo* adicionales para confirmar el efecto sinérgico de la terapia con células T-TTCR en multiplex y se están diseñando ensayos clínicos para confirmar también de manera clínica los efectos sinérgicos.

Por lo tanto, el Ejemplo presente provee composiciones y métodos útiles para terapia con células T-TTCR en multiplex, que incluyen una combinación de TCR anti-MAGE-A1 y anti-VPH o una combinación de TCR anti-MAGE-A1 y anti-MAGE-C2, y células modificadas por ingeniería que los expresan. Sin desear de estar ligado a ninguna teoría científica en particular, el presente Ejemplo además incluye que la terapia con células T-TTCR en multiplex mimetiza una respuesta oligoclonal natural de células T contra el cáncer. La terapia con células T-TTCR en multiplex, tal como una combinación descrita precedentemente, provee métodos y composiciones que abordan ciertos desafíos asociados con el tratamiento de tumores sólidos.

Se han usado diferentes ensayos para confirmar la utilidad de una terapia con células T-TCR en multiplex, tal como una combinación descrita precedentemente. En un ejemplo representativo no limitante, una combinación de TCR anti-MAGE-A1 y anti-VPH o una combinación de TCR anti-MAGE-A1 y anti-MAGE-C2, y una o más líneas celulares diana que expresan sus antígenos cognados se multiplexan usando experimentos de cocultivo directo e indirecto para evaluar el sinergismo potencial del uso de más de un TCR para direccionar contra los tumores, así como también para la comprensión de los mecanismos biológicos detrás de dicho sinergismo. Este ensayo se puede usar para modelar la muerte celular mediada por células T en multiplex mediante una terapia con células T-TCR en multiplex que incluye combinaciones de TCR de interés, y heterogeneidad, *in vitro*.

En un caso representativo, se puede usar y/o ensayar el multiplexado de (i) un TCR anti-MAGE-A1 dirigido contra un epítopo restringido al serotipo HLA-C*07 de MAGE-A1 (Tabla 3A) y (ii) un TCR anti-VPH16 E7 dirigido contra un epítopo restringido a un serotipo HLA-A*02 de VPH16 E7 (Tabla 3C), tal como mediante el uso de células modificadas por ingeniería que expresan dichos TCR.

En otro caso representativo, se puede usar y/o ensayar el multiplexado de (i) un TCR anti-MAGE-A1 dirigido contra un epítopo restringido al serotipo HLA-C*07 de MAGE-A1 (Tabla 3A) y (ii) un TCR anti-MAGE-C3 dirigido contra un epítopo restringido al serotipo HLA-B*07 de MAGE-C3 (Tabla 3B), tal como mediante el uso de células modificadas por ingeniería que expresan dichos TCR.

Un TCR anti-MAGE-A1, TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia de la cadena alfa del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena alfa de TCR descritas en una Tabla que se provee en la presente; y/o b) una secuencia de la cadena beta del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena beta del TCR descritas en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1, TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena alfa del TCR que se describen en una Tabla provista en la presente; y/o b) una secuencia

de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena beta del TCR que se describen en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_α del TCR descritas en una Tabla provista en la presente; y/o b) una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_β del TCR que se describen en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_α del TCR descritas en una Tabla provista en la presente; y/o b) una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_β del TCR que se describen en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en): por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres, tal como CDR3 sola o en combinación con una CDR1 y CDR2) secuencia de la región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena alfa del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de CDR de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de CDR de la cadena alfa del TCR que se describen en la Tabla provista en la presente. Se cree que la CDR3 es la principal CDR responsable del reconocimiento del antígeno procesado y que las CDR1 y CDR2 interaccionan principalmente con el MHC, por lo tanto, en algunas formas de realización, se provee una proteína de unión que comprende una CDR3 sola de una cadena alfa del TCR y/o una CDR3

sola de una cadena beta del TCR descritas en una Tabla provista en la presente, en donde cada CDR3 tiene una homología de secuencia como se indica en este presente Ejemplo.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres, tal como una CDR3 sola o en combinación con una CDR1 y CDR2) secuencia de la región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena beta del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de CDR de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de las CDR de la cadena beta del TCR que se describen en una Tabla provista en la presente. Tal como se describe precedentemente, se cree que la CDR3 es la principal CDR responsable del reconocimiento del antígeno procesado y que CDR1 y CDR2 interaccionan principalmente con el MHC, de manera, en algunas formas de realización, se provee una proteína de unión que comprende una CDR3 sola de una cadena beta del TCR y/o una CDR3 sola de una cadena alfa del TCR descritas en una Tabla provista en la presente, en donde cada CDR3 tiene una homología de secuencia como se describe en este Ejemplo.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres) región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena alfa del TCR que se describe en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres) región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena beta del TCR descrita en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena alfa (C_α) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de C_α del TCR descrita en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR

que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena beta (C_β) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de C_β del TCR descrita en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena alfa (C_α) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de C_α del TCR descritas en una Tabla provista en la presente.

Un TCR anti-MAGE-A1 , TCR anti-VPH, TCR anti-MAGE-C2 y/o TCR anti-PRAME, cada uno solo o en una combinación de los mismos, abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena beta (C_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de C_β del TCR descritas en una Tabla provista en la presente.

Tabla 1: Secuencias representativas de TCR

Secuencia de TCR anti-MAGEA1 32-41 de tipo salvaje Cadena alfa: TRAV27/TRAJ52/TRAC	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAAGTTGGCA TGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAG CATCCAAGAGGGAGAAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA<u>A</u> <u>GTGTTTTCTCCAGC</u>CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAA GGTCCTGTCTCCTGGTGACAG<u>GTTGTTACTGGTGGAGAA</u>GTGAA GAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCAAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGA CAGTTCTCTCCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGCC TCTACCTC<u>TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGGAAAGCTG</u> <u>ACATTT</u>GGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCATCCAAatattcagaac cctgaccctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtgacaagtctgtctgcctattcacc gattttgattctcaaacaaatgtgtcacaaagtaaggattctgatgtgtatatcacagacaaaactg tgctagacatgaggtctatggactcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctga ctttgatgtgcaaacgccttcaacaacagcattattccagaagacaccttctcccagcccag aaagttcctgtgatgtcaagctggcgagaaaagcttgaaacagatacgaacctaaacttcaa aacctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcctgaaagtgccgggttaatctgctcatgacgc tgccggtgtggtccagc (SEQ ID NO: 1)
---	--

	Secuencia proteica de cadena alfa MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSS<u>SVF</u> <u>SSL</u>LQWYRQEPGEGPVLLVT<u>VVTGGEV</u>KKLKRLTFQFGDARKDSSL HITAAQPGDTGLYL<u>CAGDESISYGKLT</u>FGQGTILTVHPNi qnpdpavyqlr dskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdv yitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanaf nnsiipedtffpsspcdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrillkvagfnllmtlrwss (SEQ ID NO: 2)
Secuencia de TCR anti-MAGEA1 32-41 de tipo salvaje Cadena beta: TRBV12-4/TRBJ1-4/TRBC1	Secuencia de ADN de cadena beta ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGT TGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACG AGGTGACAGAGATGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCA ATT<u>TCAGGACATGACTAC</u>CTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATG CGGGGACTGGAGTTGCTCATTTACT<u>TTTAACAACAACGTTCT</u>ATT GATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCC TAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAG GGACTCAGCTGTGTACTTCT<u>GTGCCAGCAGTTTTCTCGGCTGGA</u> <u>ATGAAAACTGTTCTTT</u>GGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTG Gaggacctgaacaagggtgtccacccgaggctgctgtgttgagccatcagaagcagagatc tccacacccaaaaggccacactgggtgacctggccacaggcttctcctgaccagtgaggc tgagctgggtgggtgaatgggaaggagggtgcacagtgggtcagcacggacccgcagcccctc aaggagcagcccgcctcaatgactccagatactgctgagcagccgctgaggggtctcggc caccttctggcagaacccccgcaaccacttccgctgtcaagtccagttctacgggtctcggaga atgacgagtgtagccagatagggccaaacccgtcaccagatcgtcagcgccgaggcctg gggtagagcagactgtggctttacctcggtgtcctaccagcaaggggtcctgtctgccaccatcct ctatgagatcctgctaggaaggccaccctgtatgtgtgtgtgtcagcgccctgtgtgtatggc catggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 3) Secuencia proteica de cadena beta MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPIS <u>GHDY</u>LFWYRQTMMRGGLELLIY<u>FNNNVP</u>IDDSGMPEDRFS AKMPNA SFSTLKIQPSEPRDSAVYF<u>CASSFLGWNEKLFF</u>GSGTQLSVLEdlnkv fppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsgvstdpqplkeqpain dsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfylsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgftsv syqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 4)

Secuencia de TCR anti-MAGEA1 32-41 HM con codones optimizados Nota: este clon se usó en la Figura 4 como TCR anti-MAGEA1 en multiplex con el TCR anti-MAGEC2. Además, también se usó un vector con un solo TCR para este experimento de manera tal que no se expresó ningún elemento adicional (por ejemplo, correceptor CD8alfa/beta, DN-TGFBRII, y similares). Los datos que se muestran en la Figura 3 se generaron usando la versión HM de la secuencia. Cadena alfa: TRAV27/TRAJ52/TRAC de ratón con codones optimizados	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAAGTTGGCA TGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAG CATCCAAGAGGGAGAAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAA<u>GTGTTTTCTCCAGC</u>CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAA GGTCCTGTCTCCTGGTGACAG<u>GTTGTTACTGGTGGAGAA</u>GTGAA GAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCAAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGA CAGTTCTCTCCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGCC TCTACCTC<u>TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGGAAAGCTG</u> <u>ACATTT</u>GGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCATCCAAacattcaaaac ccagaacccgccgtctaccagctgaaagacccgaggtctcaagactctacgtgtgctgttcac cgatttcgacagtcagataaatgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgacaaat gtgtgttgacatgaaggctatggacagcaagtcaaacggcgcgattgctgtgtccaaccaaac ttcttcacgtgccaggacatctcaaggagacaaacgccacctatccatcctctgatgttcggtgc gatgcgactcttaccgagaaaagcttcgagacggacatgaactgaactccaaaacctgctgtg gatggtactgcgaatacttctcttaaggtggcgggctcaattgctcatgacactcagactttggtc tagc (SEQ ID NO: 5) Secuencia proteica de cadena alfa MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSS<u>SVF</u> <u>SSL</u>QWYRQEPGEGPVLLVT<u>VVTGGEV</u>KKLKRLTFQFGDARKDSSL HITAAQPGDTGLYL<u>CAGDESISYGKLT</u>FGQGTLTVHPNiqnpepavyql kdprsqdstlclftdfdsqinvpktmesgtfitdkcvldmkamdsksngaiawsnqtsftcqdfk etnatypssdvpdatlteksfetdmnlnfqnlvmvllrlllkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 6)
Secuencia de TCR anti-MAGEA1 32-41 HM con codones optimizados	Secuencia de ADN de cadena beta ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTGCCCTTTGCATCCTGGT TGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACG AGGTGACAGAGATGGGACAAGAAGTGAAGTCTGAGATGTAAACCA

Nota: este clon se usó en la Figura 4 como TCR anti-MAGEA1 en multiplex con el TCR anti-MAGEC2. Además, también se usó un vector con un solo TCR para este experimento de manera tal que no se expresó ningún elemento adicional (por ejemplo, correceptor CD8alfa/beta, DN-TGFBR11, y similares). Los datos que se	ATTTCAGGACATGACTACCTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTACTTTTAACAACAACGTTCTATTGATGATTCAGGGATGCCCCGAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCC TAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAG GGA CTGACTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTTCTCGGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTG Gaagatcttcgaacgtaaccctccaaaagtgaagtctcttgaaccgagtaaggctgagatcg cgaacaaacaaaaggcgaccctcgctgtcttgcgcgaggatttttcccgaccacgtggagttg tcttggtgggtaaaccgtaaggagtaacacagcggtgttgcaccgaccctcaagcctacaagg aatctaactattcatactgccttcatcccgacttagggtttctgtactctttggcacaatccgagga atcactttaggtgtcaagtaacagttccacggattgtcagaggaggataaatggccggaggggtc cccgaagccggttacgcagaacattagtgccgaagcctggggacgagcagactgcggtatca cgtctgccagctatcagcaaggcgttctgtcagcgacaattctgtacgaaatactttgggtaagg ctacattgtatgcggtattggtgtctacgctggttagtcatggccatggtgaaacgaaaaaactca (SEQ ID NO: 7)
Cadena beta: TRBV12-4/TRBJ1-4/con codones optimizados mouse TRBC	Secuencia proteica de cadena beta MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPIS GHDYLFWYRQTM MRGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNA SFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSFLGWNEKLFFGSGTQLSVLEdlnvt ppkvslfepskaeiankqkatlvclargffpdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykesnysy clssrlrvsatfwhnprnhfrqvvqfhglseedkwpegsppkvtqnisaewgradcgitsasy qqgvlisatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns (SEQ ID NO: 8)
Secuencia completa de ADN del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” codifica para una secuencia que permite la expresión de dos cadenas	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTGCCCTTTGCATCCTGGT TGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACG AGGTGACAGAGATGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCA ATTTTCAGGACATGACTACCTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATG CCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTACTTTTAACAACAACGTTCTATT GATGATTCAGGGATGCCCCGAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCC TAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAG GGA CTGACTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTTCTCGGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTG

polipeptídicas en un mismo casete")	Gaagatcttcgaaacgtaacccctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcg cgaacaaacaaaaggcgaccctcgtctgtcttgcgcgaggattttcccgaccacgtggagttg tcttggtgggtaaacggttaaggaagtacacagcgggtttgcaccgaccctcaagcctacaagg aatctaactattcactgcctttcatcccgacttagggttctgtacctttggcacaatccgagga atcacttaggtgtcaagtacagttccacggattgtcagaggaggataaatggccggagggctc cccgaagccggttacgcagaacattagtgcggaagcctggggacgagcagactgcggtatca cgtctgccagctatcagcaaggcgttctgtcagcgacaattctgtacgaaatactttgggtaagg ctacattgtatgcggtattggtgtctacgctggtagtcattggccatggtgaaacgaaaaaactcaA <u>GAGCCAAAAGAAGCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTG</u> <u>AAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTATGGTCCT</u> GAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAAGTTGGCATGGGTGAG CACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAG AGGGAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA<u>AGTGTTTTCT</u> <u>CCAGCCTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTC</u> CTCCTGGTGACAG<u>GTTGTTACTGGTGGAGAA</u>GTGAAGAAGCTGAA GAGACTTACCTTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCT CCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCI <u>GTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGGAAAGCTGACATT</u>GG ACAAGGGACCATCTTGAAGTGTCCATCCAAacattcaaaaccagaacccg ccgtctaccagctgaaagaccgaggtctcaagactctacgttgctgttcaccgatttcgaca gtcagataaatgtgcctaagaccatggagagtggtcactttcatcactgacaaatgtgtgtggac atgaaggctatggacagcaagtaaacgcgcgattgcttggtccaacaaactctttcacgtg ccaggacatctcaaggagacaaacgccacctatccatcctctgatgtccgtgcgatgcgactc ttaccgagaaaagcttcgagacggacatgaactgaacttccaaacctgctgtgatggtactg cgaatacttcttctaaggtggcgggctcaatttgctcatgacactcagacttggcttagc (SEQ ID NO: 9)
Secuencia proteica completa del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio "Furina-P2A" permite la expresión de dos	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPI<u>S</u> <u>GHDY</u>LFWYRQTMMRGLELLIY<u>FNNNVPI</u>DDSGMPEDRFS AKMPNA SFSTLKIQPSEPRDSAVYF<u>CASSFLGWNEKLFF</u>SGGTQLSVLEdlrnt ppkvslfepskaeiankqkatlvclargffpdhvelswwwngkevhsqvctdpqaykesnysy clssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegsppkpvtnisaeawgradcgitsasy qqgvlsatilyeillgkatlyavlvtlvvmamvkrkns<u>RAKRSGSGATNFSLLKQAGD</u> <u>VEENPGPMVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVY</u> CNSS<u>SVFSS</u>LQWYRQEPGEGPVLLVT<u>VVTGGEV</u>KKLKRLTFQFGD

cadena polipeptídicas en un mismo casete")	ARKDSSLHITAAQPGDTGLYL<u>CAGDEISISYGKLTF</u>GQGTLTVHPNiq npepavyqlkdpnsqdstlclftdfdsqinvpktmesgtfitdkcvldmkamdsksngaiawsn qtsftcqdfketnatypssdvpcdatlteksfetdmnlnfnqnlvmvrlrllllkvagfnllmtrlwss (SEQ ID NO: 10)
Nota: las secuencias de CDR1 y CDR2 para cada clon siguiente son redundantes para el nombre de clon base correspondiente indicado anteriormente	
Secuencia de TCR anti-MAGEA1 32-41 (también conocido como clon "TSC-204-C07", "TSC-204-C7", y "TSC-204-C0702") MGTm con codones optimizados Nota: este clon se usó en la Figura 3 como TCR anti-MAGEA1 en multiplex con el TCR anti-VPH y en las Figuras 6 y 7-9 en multiplex con otros TCR Cadena alfa: TRAV27/TRAJ52/MGT M TRAC modificado	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAAGTTGGCA TGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAG CATCCAAGAGGGAGAAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAA<u>GTGTTTTCTCCAGC</u>CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAA GGTCCTGTCTCCTGGTGACAG<u>GTTGTTACTGGTGAGAA</u>GTGAA GAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCAAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGA CAGTTCTCTCCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGCC TCTACCTCT<u>GTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGGAAAGCTG</u> <u>ACATTT</u>GGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCATCCAaacatccagaac cccgacccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgttta cggacttcgacagccagaccaacgtgagtcgaaagcaaggacagcgagcttacataacgga taagaccgtgctggacatgcggagcatggactcaagagcaacagcgccgtggcctggtcca acaagagcgacttcgctgcgccaacgcctcaacaacagcatcatccccaggagacacctctt ccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtcctcgagacagacacca atctgaacttcagaacgtgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggcgggctcaa tctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 11) Secuencia proteica de cadena alfa MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSS<u>SVF</u> <u>SSL</u>QWYRQEPGEGPVLLVT<u>VVTGGEV</u>KKLKRLTFQFGDARKDSSL HITAAQPGDTGLYL<u>CAGDEISISYGKLTF</u>GQGTLTVHPNiqnpepavyqlr dskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvjitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanaf nnsiipedtffpsdvpcdvklveksfetdtnlnfnqnlvivrllllkvagfnllmtrlwss (SEQ ID NO: 12) Secuencia de ADN de cadena beta

Secuencia de TCR anti-MAGEA1 32-41 (también conocido como clon “TSC-204-C07”, “TSC-204-C7”, y “TSC-204-C0702”) MGTM con codones optimizados Nota: este clon se usó en la Figura 3 como TCR anti-MAGEA1 en multiplex con el TCR anti-VPH y en las Figuras 6 y 7-9 en multiplex con otros TCR Cadena beta: TRBV12-4/TRBJ1-4/MGTM modificado	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGT TGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACG AGGTGACAGAGATGGGACAAGAAGTGAAGTCTGAGATGTAAACCA ATT<u>TCAGGACATGACTAC</u>CTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATG CGGGGACTGGAGTTGCTCATTTACT<u>TTCAACAACAACGTTCTCT</u>ATT GATGATTCAGGGATGCCCCGAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCC TAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAG GGAAGTCAGCTGTGTACTTCT<u>TGTGCCAGCAGTTTTCTCGGCTGGA</u> <u>ATGAAAAACTGTTCTTT</u>GGCAGTGGAAACCCAGCTCTCTGTCTTGg aagatctgaacaaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgc ccacacacaaaaagccaccctcgtgtgctggccaccggcttttccccgaccagtggaactg tcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaa gaacagcctgccctgaacgacagccgggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgccac cttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcgagaac gacgagtggaccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctggg gaagagccgattgcggcatcaccagcgctcctatcaccagggcggtgctgagcgccacaatc ctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgtgctgctggtgctgatg gccatggtcaagcggaaggacttt (SEQ ID NO: 13)
	Secuencia proteica de cadena beta MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPIS <u>GHDY</u>LFWYRQTMMRGLELLIY<u>FNNNVP</u>IDDSGMPEDRFSKMPNA SFSTLKIQPSEPRDSAVYF<u>CASSFLGWNEKLFF</u>GSGTQLSVLEdInkv fppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsgvstpqplkeqpain dsryclssrlrvsatfwqnpnrnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsa syhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 14)
Secuencia completa de ADN del ORF de las cadenas beta y alfa	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGT TGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACG AGGTGACAGAGATGGGACAAGAAGTGAAGTCTGAGATGTAAACCA ATT<u>TCAGGACATGACTAC</u>CTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATG CGGGGACTGGAGTTGCTCATTTACT<u>TTCAACAACAACGTTCTCT</u>ATT GATGATTCAGGGATGCCCCGAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCC TAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAG GGAAGTCAGCTGTGTACTTCT<u>TGTGCCAGCAGTTTTCTCGGCTGGA</u>

	<u>ATGAAAACTGTTCTTT</u>GGCAGTGGAAACCCAGCTCTCTGTCTTGg aagatctgaacaaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgc ccacacacaaaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaactg tcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaa gaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgccac cttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagtttacggcctgagcgagaac gacgagtggaccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctggg gaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcgtgtgagcgccacaatc ctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgtggtgtctgtctggtgtgatg gcatggtcaagcggaaggacttt<u>GGCAGCGGCAGAGCCAAAAGGTCCGG</u> <u>GAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACG</u> <u>TTGAAGAGAACCCCGGACCTATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCC</u> ATTCTTTGGATTCA GTTGGCATGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGA GCAGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGGAGAAAATCTCA CTGTGTACTGCAACTCCTCA<u>AGTGTTTTCTCCAGC</u>CTTCAATGGT ACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACAG<u>GTT</u> <u>GTTACTGGTGGAGAA</u>GTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCA GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCAG CCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTC<u>TGTGCAGGAGATGAA</u> <u>AGTATTAGCTATGGAAAGCTGACATT</u>GGACAAGGGACCATCTT GACTGTCCATCCAaacatccagaacccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactc caagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagta aagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgtggacatgcggagcatggact tcaagagcaacagcgccgtggcctggccaacaagagcgacttcgctgcgccaacgccttc aacaacagcatcatccccgaggacaccttctccccagcagcgacgtgcctgcgacgtgaaa ctggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaacttcagaacctgctggtgatcgtgct gctgattctgctgctgaaagtggccggctcaatctgctgatgacctgctgggtgtggagc (SEQ ID NO: 15)
Secuencia proteica completa del ORF de las cadenas beta y alfa	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPI<u>S</u> <u>GHDY</u>LFWYRQTMMRGLELLIY<u>FNNNVP</u>IDDSGMPEDRFS AKMPNA SFSTLKIQPSEPRDSAVYF<u>CASSFLGWNEKLFF</u>GSGTQLSVLEdlnkv fppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsgvstpqplkeqpain dsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfylsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsa syhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf<u>GSGRAKRS</u>GSGATNFSLLK

	QAGDVEENPGPMVLKFSVSILWQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGE NLTVYCNSS<u>SVFSSL</u>LQWYRQEPGEGPVLLVT<u>VVTGGEV</u>KKLKRLTF QFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYL<u>CAGDESISYGKLT</u>FGQGTILTV HPNi qnpdpavyqlrdsksdksvcldfdsqtnvsqskdsdvitdktvldmrsmdfksnsa vawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnlvivlriillkvagfnll mtlrlws (SEQ ID NO: 16)
Secuencia de TCR anti-MAGEC2 8-3 de tipo salvaje Cadena alfa: TRAV24*01 F/TRAJ32*02/TRAC	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCACTTCTTATCCTCTGGTTT CATCTTGACTGCGTGAGCAGCATTCTGAACGTGGAACAAAGTCC TCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGGGAGACAGCACCAATTTACCT GCAGCTTCCCTT<u>TCAGCAATTTTATGCC</u>CTTCACTGGTACAGAT GGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTGTTTGTT<u>ATGACTCTT</u> <u>AATGGGGATGAAA</u>AAGAAGAAAGGACGCATTAGTGCCACTCTTAA TACCAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTATATCAAAGGATCCCAGCC TGAGGACTCAGCCACATACCTCTGT<u>GCCTCCGGAAGTGGTGGTG</u> <u>CTACAAACAAGCTCATC</u>TTTGGAAGTGGCACTCTGCTTGCTGTC CAGCCAAatattccagaaccctgaccctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagt acaagtctgtctgcctattcaccgattttgattctcaacaaatgtgtcacaagtaaggattctgat gtgtatatcacagacaaaactgtgctagacatgaggtctatggactcaagagcaacagtgctgt ggcctggagcaacaaatctgactttgcatgtgcaaacgccttcaacaacagcattattccagaa gacaccttctccccagcccagaaagttcctgtgatgtcaagctggcgagaaaaagctttgaaac agatacgaacctaaactttcaaaacctgtcagtgattgggtccgaatcctcctctgaaagtggc cgggttaattctgctcatgacgtgcggctgtgtccagc (SEQ ID NO: 17) Secuencia proteica de cadena alfa MEKNPLAAPLLILWFHLDVCSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSF P<u>SSNFYAL</u>HWYRWETAKSPEALFV<u>MTLNGDE</u>KKKGRISATLNTKEG YSYLYIKGSQPEDSATYLC<u>ASGSGGATNKL</u>IFGTGTLLAVQPni qnpd pavyqlrdsksdksvcldfdsqtnvsqskdsdvitdktvldmrsmdfksnsavawsnksd facanafnnsiipedtffpsscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrillkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 18)
	Secuencia de ADN de cadena beta

Secuencia de TCR anti-MAGEC2 8-3 de tipo salvaje Cadena beta: TRBV16*01/TRBJ1-1*01/TRBC1	ATGAGCCCAATTTTCACCTGCATCACAATCCTTTGTCTGCTGGCT GCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCGCCCAGACTCCAAAACATCT TGTCAGAGGGGAAGGACAGAAAGCAAACTTTATTGTGCCCAA TT<u>AAAGGACACAGTTAT</u>GTTTTCTGGTACCAACAGGTCCTGAAAA ACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC<u>TTCCAGAATGAAAATGTC</u>TTTG ATGAAACAGGTATGCCCAAGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCC CAAATTCACCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGAGG ATTCAGCAGTGTATTTTTGT<u>GCCAGCAGCCAATCACGGAGCCTT</u> <u>AGGGGCACTGAAGCTTTC</u>TTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGT TGTTGaggacctgaacaaggtgtccacccgaggtcgtgtgttgagccatcagaagcag agatctccacacccaaaaggccacactggtgtgctggccacaggcttcttcctgaccacgt ggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtggggtcagcacggaccgcag cccctcaaggagcagcccgcctcaatgactccagatactgctgagcagccgctgagggtc tcggccaccttctggcagaacccccgaaccacttccgctgtcaagtcagttctacgggctctc ggagaatgacgagtggaaccaggatagggccaaaccgctcaccagatcgtcagcgccga ggcctggggtagagcagactgtggctttacctcggtgtcctaccagcaaggggtcctgtctgcc ccatcctctatgagatcctgctaggaagggccaccctgtatgctgtgctggtcagcgcccttggtt gatggccatggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 19)
	Secuencia proteica de cadena beta MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQKAKLYCAPI<u>IKGH</u> <u>SY</u>VFWYQQVLKNEFKFLIS<u>FQNE</u>NVFDETGMPKERFSKCLPNSPC SLEIQATKLEDSAVYFC<u>ASSQSRSLRGTEA</u>FFGQGTRLTVVEdlnkvfp pevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsqvstdpqplkeqpalnds ryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgftsvsy qqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 20)
Secuencia de TCR anti-MAGEC2 8-3 HM con codones optimizados Nota: este clon se usó en la Figura 4 como TCR anti-MAGEC2 en	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCACTTCTTATCCTCTGGTTT CATCTTGACTGCGTGAGCAGCATTCTGAACGTGGAACAAAGTCC TCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGGGAGACAGCACCAATTTACCT GCAGCTTCCCT<u>TCAGCAATTTTTATGCC</u>CTTCACTGGTACAGAT GGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTGTTTGT<u>ATGACTCTT</u> <u>AATGGGGATGAA</u>AAGAAGAAAGGACGCATTAGTGCCACTCTTAA TACCAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTATATCAAAGGATCCCAGCC

multiplex con el TCR anti-MAGEA1. Además, también se usó un vector con un solo TCR para este experimento de manera tal que no se expresó ningún elemento adicional (por ejemplo, correceptor CD8alfa/beta, DN-TGFBR11, y similares). Cadena alfa: TRAV24*01 F/TRAJ32*02/TRAC de ratón con codones optimizados	TGAGGACTCAGCCACATACCTCTGT<u>GCCTCCGGAAGTGGTGGTG</u> <u>CTACAAACAAGCTCATCT</u>TTTGGAAGTGGCACTCTGCTTGCTGTC CAGCCAAacattcaaaacccagaacccgccgtctaccagctgaaagacccgaggtctca agactctacgttgctgtgttcaccgatttcgacagtcagataaatgtgcctaagaccatggagagt ggcactttcatcactgacaaatgtgtgttgacatgaaggctatggacagcaagtcaaacggcg cgattgcttggtccaacaaacttcttcacgtgccaggacatctcaaggagacaaaacgccacc tatccatcctctgatgttcgtgcatgacgtcttaccgagaaaagcttcgagacggacatgaa cttgaacttcaaaacctgctgtgatgtactgcaatacttctttaaaggtggcgggctcaattt gctcatgacactcagactttggtctagc (SEQ ID NO: 21) Secuencia proteica de cadena alfa MEKNPLAAPLLILWFHLCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSF P<u>SSNFYAL</u>HWYRWETAKSPEALFV<u>MTLNGDE</u>KKKGRISATLNTKEG YSYLYIKGSQPEDSATYLC<u>ASGSGGATNKL</u>IFGTGTLLAVQPNiqnpe pavyqlkdprsqdstlclftdfdsqinvpktmesgtfitdkcvldmkamdsksngaiawsnqtsft cqdifketnatypssdvpcdatltekstetdmnlnfnqllvmvrlillkvagfnllmtrlwss (SEQ ID NO: 22)
Secuencia de TCR anti-MAGEC2 8-3 HM con codones optimizados Nota: este clon se usó en la Figura 4 como TCR anti-MAGEC2 en multiplex con el TCR anti-MAGEA1. Además, también se usó un vector con un solo TCR para este experimento de manera tal que no se expresó ningún elemento adicional (por ejemplo, correceptor	Secuencia de ADN de cadena beta ATGAGCCCAATTTTACCTGCATCACAATCCTTTGTCTGCTGGCT GCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCGCCCAGACTCCAAAACATCT TGTCAGAGGGGAAGGACAGAAAGCAAACCTTTATTGTGCCCCAA TT<u>AAAGGACACAGTTAT</u>GTCTTTCTGGTACCAACAGGTCCTGAAAA ACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC<u>TTCCAGAATGAAAATGTC</u>TTTG ATGAAACAGGTATGCCCAAGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCC CAAATTCACCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGAGG ATTCAGCAGTGTATTTTTGT<u>GCCAGCAGCCAATCACGGAGCCTT</u> <u>AGGGGCACTGAAGCTTTC</u>TTTGACAAGGCACCAGACTCACAGT TGTTGaagatcttcgaaacgtaacccctccaaaagtgagtcctttgaaccgagtaaggctg agatcgcaacaaacaaaaggcgaccctcgctctgttgcgcgaggattttcccgaccacgtg gagttgtcttggtgggtaaacggtaaggaagtacacagcggtgttgaccgaccctcaagccta caaggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggttctgctacctttggcacaatcc gaggaatcactttaggtgtcaagtacagtccacggattgtcagaggaggataaatggccggag ggctccccgaagccggttacgcagaacattagtgcggaagcctggggacgagcagactgag gtatcacgtctgccagctatcagcaaggcggtctgtcagcgacaattctgtacgaaatactttggg

CD8alfa/beta, DN-TGFBRII, y similares).	taaggctacattgtatgcggtattggtgtctacgctggtagtcattggccatggtgaaacgaaaaa ctca (SEQ ID NO: 23)
Cadena beta: TRBV16*01/TRBJ1-1*01/TRBC de ratón con codones optimizados	Secuencia proteica de cadena beta MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQKAKLYCAPI <u>KGH</u> <u>SY</u> VFWYQQVLKNEFKFLIS <u>FQNE</u> NVFDETGMPKERFSAKCLPNSPC SLEIQATKLEDNAVYFC <u>ASSQS</u> <u>RS</u> <u>LRGTE</u> <u>AF</u> FQGQTRLTVVEdlrnvt pkvslfepskaeiankqkatlvclargffpdhvelswwwngkevhsqvctdpqaykesnysycl ssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegsppkvtqnisaeawgradcgitsasyqq gvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns (SEQ ID NO: 24)
Secuencia completa de ADN del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” codifica para una secuencia que permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete”)	ATGAGCCCAATTTTACCTGCATCACAATCCTTTGTCTGCTGGCT GCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCGCCCAGACTCCAAAACATCT TGTCAGAGGGGAAGGACAGAAAGCAAACTTTATTGTGCCCAA TT <u>AAAGGACACAGTTAT</u> GTTTTCTGGTACCAACAGGTCCTGAAAA ACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC <u>TTCCAGAATGAAAATGTC</u> TTTG ATGAAACAGGTATGCCCAAGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCC CAAATTCACCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGAGG ATTCAGCAGTGTATTTTTGT <u>GCCAGCAGCCAATCACGGAGCCTT</u> <u>AGGGGCACTGAAGCTTTC</u> TTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGT TGTTGaagatcttcgaaacgtaaccctccaaaagtgagtctcttgaaccgagtaaggctg agatcgcaacaaacaaaaggcgaccctcgctctgtcttgcgcgaggattttcccgaccacgtg gagttgtcttggtgggtaaacggtaaggaagtacacagcgggtgttgacccgaccctcaagccta caaggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgctaccttttgccacaatcc gaggaatcacttttaggtgtcaagtacagttccacggattgtcagaggaggataaatggcggag ggctccccgaagccggttacgcagaacattagtcggaagcctggggacgagcagactgcg gtatcacgtctgccagctatcagcaaggcgttctgtcagcgacaattctgtacgaaatactttggg taaggctacattgtatgcggtattggtgtctacgctggtagtcattggccatggtgaaacgaaaaa ctca <u>agagccaaaagaagcgggagcgggtgcgacaaactttagcctgttgaaacaagccggc</u> <u>gacgttgaagagaaccccgacct</u> ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCA CTTCTTATCCTCTGTTTTATCTTGACTGCGTGAGCAGCATTCTG AACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGGGAGA CAGCACCAATTTACCTGCAGCTTCCCT <u>TCCAGCAATTTTTATGC</u> <u>CCTT</u> CACTGGTACAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCT TGTTTGTT <u>ATGACTCTTAATGGGGATGAA</u> AAGAAGAAAGGACGC

	ATTAGTGCCACTCTTAATACCAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTAT ATCAAAGGATCCCAGCCTGAGGACTCAGCCACATACCTCTGT<u>GC</u> <u>CTCCGGAAGTGGTGGTGCTACAAACAAGCTCATC</u>TTTGGAAGTG GCACTCTGCTTGCTGTCCAGCCAAacattcaaaaccagaacccgccgtctac cagctgaaagacccgaggtctcaagactctacgttgctgttcaccgatttcgacagtcagata aatgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgacaaatgtgtgttgacatgaaggc tatggacagcaagtcaaacggcgcgattgcttggtccaacaaactcttcacgtgccaggac atctcaaggagacaaacgccacatatccatcctctgatgttccgtgcatgacgactctaccgag aaaagcttcgagacggacatgaactgaactccaaaacctgcttgatggtactgcaataactg cttctaaggtggcgggctcaattgctcatgacactcagactttggtctagc (SEQ ID NO: 25)
Secuencia proteica completa del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete”)	MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQKAKLYCAPI<u>KGH</u> <u>SY</u>VFWYQQVLKNEFKFLISFQENENVFDETGMPPERFSAKCLPNSPC SLEIQATKLEDSAVYFC<u>ASSQSRSLRGTEAFF</u>GQGTRLTVVEdlrinvtp pkvslfepskaeiankqkatlvclargffpdhvelswwwngkevhsgvctdpqaykesnysycl ssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhlseedkwpegsppkvtqnisaewgradcgitsasyqq gvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns<u>rakrsgsgatnfsllkqagdveenpgp</u>ME KNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPS <u>SNFYA</u>LHWYRWETAKSPEALFV<u>MTLNGDEK</u>KKGRISATLNTKEGYS YLYIKGSQPEDSATYLC<u>ASGSGGATNKL</u>IFGTGTLAVQPNiqnpepav yqlkdprsqdstlclftdfdsqinvpktmesgftidkcvldmkamdsksngaiaawnsqtsftcq ifketnatypssdvpdatltekstetdmnlfnqnlvmvrlrillkvagfnllmtlrwss (SEQ ID NO: 26)
Secuencia de TCR anti-MAGEC2 8-3 (también conocido como clon “TCR LD8-3”) MGTM con codones optimizados Cadena alfa:	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCACTTCTTATCCTCTGGTTT CATCTTGACTGCGTGAGCAGCATTCTGAACGTGGAACAAAGTCC TCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGGGAGACAGCACCAATTTACCT GCAGCTTCCCT<u>TCCAGCAATTTTTATGCC</u>CTTCACTGGTACAGAT GGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTGTTTGT<u>ATGACTCTT</u> <u>AATGGGGATGAA</u>AAGAAGAAAGGACGCATTAGTGCCACTCTTAA TACCAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTATATCAAAGGATCCCAGCC TGAGGACTCAGCCACATACCTCTGT<u>GCCTCCGGAAGTGGTGGTG</u> <u>CTACAAACAAGCTCATC</u>TTTGGAAGTGGCACTCTGCTTGCTGTC

TRAV24*01 F/TRAJ32*02/MGTM TRAC modificado	CAGCCAAacatccagaacccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccag cgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaagga cagcgacgtctacataacggataagaccgtgctggacatgaggagcatggacttaagagca acagcgccgtggcctgggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttaacaacagc atcatccccgaggacaccttctccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggaggag aagtccttcgagacagacaccaatctgaacttcagaacctgctgggtgatcgtgctgcggattctg ctgctgaaagtggccggcttaactctgctgatgacctgcgggtgtggagcagc (SEQ ID NO: 27) Secuencia proteica de cadena alfa MEKNPLAAPLLILWFHLCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSF P<u>SSNFYAL</u>HWYRWETAKSPEALFV<u>MTLNGDE</u>KKKGRISATLNTKEG YSYLYIKGSQPEDSATYLC<u>ASGSGGATNKLIF</u>GTGTLLAVQPNi qnpd pavyqlrdsksdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvitdktvldmrsmdfksnsavawsnksd facanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfnllvivrillkvagfnllmtlrwss (SEQ ID NO: 28)
Secuencia de TCR anti-MAGEC2 8-3 (también conocido como clon “TCR LD8- 3”) MGTM con codones optimizados Cadena beta: TRBV16*01/TRBJ1- 1*01/ MGTM TRBC modificado	Secuencia de ADN de cadena beta ATGAGCCCAATTTTACCTGCATCACAATCCTTTGTCTGCTGGCT GCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCGCCCAGACTCCAAAACATCT TGTCAGAGGGGAAGGACAGAAAGCAAACTTTATTGTGCCCCAA TT<u>AAAGGACACAGTTAT</u>GTGTTTCTGGTACCAACAGGTCCTGAAAA ACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC<u>TTCCAGAATGAAAATGTC</u>TTTG ATGAAACAGGTATGCCCAAGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCC CAAATTCACCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGAGG ATTGAGCAGTGTATTTTTGT<u>GCCAGCAGCCAATCACGGAGCCTT</u> <u>AGGGGCACTGAAGCTTTC</u>TTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGT TGTTGaagatctgaacaagggtgtccctccagaggtggccgtgtcgagccttctaaggccga gatcgccacacacaaaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtg gaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctc tgaaagaacagcctgccctgaacgacagccgggtactgcctgagctccagactgagagtgccg ccaccttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagtttacggcctgagcga gaacgacgagtggaaccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcc tggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctctatcaccagggcgtgctgagcgccac

	aatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgct gatggccatggtcaagcggaaggacttt (SEQ ID NO: 29) Secuencia proteica de cadena beta MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQKAKLYCAPI<u>KGH</u> <u>SY</u>VFWYQQVLKNEFKFLIS<u>FQNE</u>NVFDETGMPPERFSKCLPNSPC SLEIQATKLEDSAVYFC<u>ASSQSRSLRGTEAF</u>FQGQTRLTVVEdlnkvfp pevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsqvstdpqplkeqpalnds ryclssrlrvsatfwqnrnhfrqcvfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasy hggvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 30)
Secuencia completa de ADN del ORF de las cadenas beta y alfa	ATGAGCCCAATTTTACCTGCATCACAATCCTTTGTCTGCTGGCT GCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCGCCCAGACTCCAAAACATCT TGTCAGAGGGGAAGGACAGAAAGCAAACTTTATTGTGCCCCAA TT<u>AAAGGACACAGTTAT</u>GTTTTCTGGTACCAACAGGTCCTGAAAA ACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC<u>TTCCAGAATGAAAATGTC</u>TTTG ATGAAACAGGTATGCCCAAGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCC CAAATTCACCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGAGG ATTCAGCAGTGTATTTTTGT<u>GCCAGCAGCCAATCACGGAGCCTT</u> <u>AGGGGCACTGAAGCTTTC</u>TTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGT TGTTGaagatctgaacaaggtgtccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccga gatcgccacacacaaaaagccaccctcggtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtg gaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcggtgcaacggatccccagcctc tgaaagaacagcctgacctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccg ccacctctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcga gaacgacgagtggaccaggacagagccaagcccgtagacaaaatcgtgtctgccgaagcc tggggaagagccgattgcggcatcaccagcgccctcctatcaccagggcggtgtagcgccac aatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgct gatggccatggtcaagcggaaggactttgagcagcgccagagccaaaagaagcgggagcgg <u>tcgacaaaactttagcctgttgaaacaagccggcgacgttgaagagaacccccggacct</u>ATG GAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCACTTCTTATCCTCTGGTTTCAT CTTGACTGCGTGAGCAGCATTCTGAACGTGGAACAAAGTCCTCA GTCACTGCATGTTTCAGGAGGGAGACAGACCAATTTACCTGCA GCTTCCCT<u>TCCAGCAATTTTTATGCC</u>CTTCACTGGTACAGATGGG AAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTGTTTGTT<u>ATGACTCTTAATG</u>

	<u>GGGATGAAA</u>AAGAAGAAAGGACGCATTAGTGCCACTCTTAATACC AAGGAGGGTTACAGCTATTTGTATATCAAAGGATCCCAGCCTGAG GACTCAGCCACATACCTCTGT<u>GCCTCCGGAAGTGGTGGTGCTAC</u> <u>AAACAAGCTCATC</u>TTTGGAAGTGGCACTCTGCTTGCTGTCCAGC CAAacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgaca agagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtc aaagcaaggacagcg acgtctacataacggataagaccgtgtggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagc gccgtggcctggtccaacaagagcgcacttcgctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatc cccgaggacaccttctccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtcc ttcgagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctg aaagtggccggcttcaatctgctgatgacctgcggctgtggagcagc (SEQ ID NO: 31)
Secuencia proteica completa del ORF de las cadenas beta y alfa	MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQKAKLYCAPI<u>KGH</u> <u>SY</u>VFWYQQVLKNEFKFLIS<u>FQENENV</u>FDETGMPPERFSAKCLPNSPC SLEIQATKLEDSAVYFC<u>ASSQSRSLRGTEAFF</u>GQGTRLTVVEdlnkvfp pevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsqvstdpqpkeqpalnds ryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasy hqqvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvrkrdf<u>gsgrakrsqsgatnfsllkqagdveenp</u> <u>gp</u>MEKNPLAAPLLILWFHLDVCSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTC SFP<u>SSNFYA</u>LHWYRWETAKSPEALFV<u>MTLNGDE</u>KKKGRISATLNTK EGYSYLYIKGSQPEDSATYLC<u>ASGSGGATNKL</u>IFGTGTLAVQPNiqn pdpavyqlrdsksdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnk sdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfnqnlvivlrillkvagfnllmtlrwss (SEQ ID NO: 32)
Secuencia de E7-11-28 MGTM con codones optimizados (también conocido como “TCR28” o “28”) Cadena alfa: TRAV25/TRAJ37/MGT M TRAC modificado	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGCTGCTGATCACCTCCATGCTGGTGCTGTGGATGCAGCTGAG CCAAGTGAACGGCCAGCAAGTGATGCAGATCCCTCAGTACCAGC ACGTGCAAGAAGGCGAGGACTTCACACCTACTGCAACAGCAGC <u>ACCACACTGAGCAAC</u>ATCCAGTGGTACAAGCAGCGGCCTGGCG GACACCCTGTGTTTCTGATCCAG<u>CTGGTCAAGTCCGGCGAAGTG</u> AAGAAGCAGAAGCGGCTGACCTTCCAGTTCGGCGAGGCCAAGA AGAACAGCAGCCTGCACATCACCGCCACACAGACCACAGATGTG GGCACCTACTTCT<u>TGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACACCGGTA</u> <u>AGCTCATCTTT</u>GGGCAAGGGACAACCTTTACAAGTAAAACCAgacat

	ccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcggtg tgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctac ataacggataagaccgtgctggacatgcggagcatggactcaagagcaacagcgccgtggc ctggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttaacaacagcatcatccccgagga caccttctccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggaggagaagtccttcgagaca gacaccaatctgaacttcagaacctgctggatgcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggcc ggcttcaatctgctgatgacctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 33) Secuencia proteica de cadena alfa MLLITSMVLVLMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSST <u>TL</u><u>SN</u><u>IQWYKQRP</u><u>GHPVFLIQ</u><u>LVKS</u><u>GEV</u>KKQKRLTFQFGEAKKNSS LHITATQTTDVGTYF<u>CAGIGSSNTGKLIF</u>GQGTTLQVKPDiqnpdpavyq Irdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdkvldmrsmdfksnsavawnsksdfacan afnnsiipedtffpssdvpdcvklveksfetdtnlnfqnlvivlriillkvagfnlmtlrlws (SEQ ID NO: 34)
Secuencia de E7-11-28 MGTM con codones optimizados Cadena beta: TRBV2/TRBJ2-7/MGTM TRBC modificado	Secuencia de ADN de cadena beta ATGGATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAGCCTGCTGAA GGCCGGACTGACCGAGCCTGAAGTGACCCAGACTCCAAGCCAT CAAGTGAATCAGATGGGGCAAGAAGTCATTCTGCGTTGCGTGCC CATC<u>AGCAACCACCTGTAC</u>TTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGG GCCAGAAAGTGGAATTCCTGGTGTCC<u>TTCTACAACAATGAGATC</u> TCCGAGAAGTCCGAGATCTTCGACGACCAGTTCTCCGTGGAAAG ACCCGACGGCAGCAACTTCACACTGAAGATCCGGTCTACCAAAC TTGAGGACTCCGCTATGTATTTTT<u>TGTGCAATCACAGGTCGCGTTT</u> <u>CATATGAGCAATATTTC</u>GGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCAC Agaagatctgaacaaggtgtccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatc gcccacacacaaaaagccaccctcggtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaa ctgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctga aagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgcc accttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagtttacggcctgagcgaga acgacgagtggaccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctg gggaagagccgattgcggcatcaccagcgctcctatcaccagggcggtgctgagcgccacaa tctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgctgctgctggtgctgat

	ggccatggtcaagcggaaggactttggcagcggcagagccaaaagggtccgggagcggt (SEQ ID NO: 35) Secuencia proteica de cadena beta MDTWLVCWAIFSLLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGQEVLRCVPI<u>SN</u> <u>HL</u>YFYWYRQILGQKVEFLVS<u>FYNNEI</u>SEKSEIFDDQFSVERPDGSNF TLKIRSTKLEDSAMYF<u>CAITGRVS</u><u>YEQYF</u>GPGTRLTVTEdlnkvfppeva vfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsgvstdpqplkeqpalndsrycls srlrvsatfwqnpnrnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgv lsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsggrakrsgsg (SEQ ID NO: 36)
Secuencia completa de ADN del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” codifica para una secuencia que permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete”)	ATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAGCCTGCTGAAGGCC GGACTGACCGAGCCTGAAGTGACCCAGACTCCAAGCCATCAAGT GACTCAGATGGGGCAAGAAGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATCA<u>A</u> <u>GCAACCACCTGTAC</u>TTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGGGCCAG AAAGTGGAATTCCTGGTGTCC<u>TTCTACAACAATGAGATC</u>TCCGA GAAGTCCGAGATCTTCGACGACCAGTTCTCCGTGGAAAGACCCG ACGGCAGCAACTTCACACTGAAGATCCGGTCTACCAAATTGAG GACTCCGCTATGTATTTT<u>TGTGCAATCACAGGTCGCGTTTCATAT</u> <u>GAGCAATATTTC</u>GGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAgagat ctgaacaagggtgtccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccaca cacaaaaagccaccctcggtgtcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaactgtcttgg gggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaaca gcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgccaccttctgg cagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcgagaacgacga gtggaccaggacagagccaagcccgtagacacaaatcggtgtctgccgaagcctggggaaga gccgattgcggcatcaccagcgctcctatcaccagggcggtgctgagcgccacaatcctgtacg aaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgtctgctgtggtgctgatggccatgg tcaagcggaaggactttggcagcggcagagccaaaagggtccgggagcggt<u>GCGACAAA</u> <u>CTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCG</u> <u>GACCTATGCTGCTGATCACCTCCATGCTGGTGCTGTGGATGCAG</u> CTGAGCCAAGTGAACGGCCAGCAAGTGATGCAGATCCCTCAGTA CCAGCACGTGCAAGAAGGCGAGGACTTCACCACCTACTGCAACA GCAGC<u>ACCACACTGAGCAAC</u>ATCCAGTGGTACAAGCAGCGGCC TGGCGGACACCCTGTGTTTCTGATCCAG<u>CTGGTCAAGTCCGGCG</u>

	<u>AAGTGA</u>AAGAAGCAGAAGCGGCTGACCTTCCAGTTCGGCGAGGC CAAGAAGAACAGCAGCCTGCACATCACCGCCACACAGACCACAG ATGTGGGCACCTACTTCT<u>TGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACAC</u> <u>CGGTAAGCTCATCTTT</u>GGGCAAGGGACAACCTTTACAAGTAAAC CAGacatccagaacccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgaca agagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtc aaagcaaggacagcg acgtctacataacggataagaccgtgtggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagc gccgtggcctggtccaacaagagcgcacttcgctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatc cccgaggacaccttctcccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtcc ttcgagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctg aaagtggccggcttcaatctgctgatgacctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 37)
Secuencia proteica completa del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete”)	MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGQEVILRCVP<u>ISN</u> <u>HL</u>YFYWYRQILGQKVEFLVS<u>FYNNEI</u>SEKSEIFDDQFSVERPDGSNF TLKIRSTKLEDSAMYF<u>CAITGRVSYEQYF</u>GPGTRLTVTEdlnkvfppeva vfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwwvngkevhsgvstdpqpplkeqpalndsrycls srlrvsatfwqnpnrnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaewgradcgitsasyhqgv lsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsggrakrsgsg<u>ATNFSLLKQAGDVEEN</u> <u>PGP</u>MLLITSMLVLWMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVEGEDFTTYCN SS<u>TTLSNI</u>QWYKQRPGGHPVFLIQ<u>LVKSGEV</u>KKQKRLTFQFGEAKK NSSLHITATQTTDVGTYF<u>CAGIGSSNTGKLIF</u>GQGTTLQVKPDiqnpdp avyqlrdsksdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawnsksdf acanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnlvivlriillkvagfnllmtlrlws (SEQ ID NO: 38)

* En la Tabla 1 se proveen, en parte, secuencias de TCR representativos agrupadas de acuerdo con la presentación en el serotipo de MHC y subagrupadas de acuerdo con diferentes péptidos presentados por el serotipo de MHC y unidos por los TCR subagrupados. Los TCR individuales, tales como aquellos ejemplificados de manera representativa en las tablas, se describen y reivindican, así como también los géneros de las proteínas de unión que se unen a una secuencia del epítopo peptídico descrita en la presente sola o en formando complejo con un MHC, tales como aquellas agrupadas en las tablas que se proveen en la presente. Además, se proveen los genes TRAV, TRAJ y TRAC de cada cadena alfa del TCR descrita en la presente, y los genes TRBV, TRBJ y TRBC de cada cadena beta del TCR descrita en la presente. Las secuencias de cada TCR descrito en la presente se proveen como pares de cadenas alfa y beta cognadas para cada TCR indicado.

Las secuencias de los TCR descritas en la presente están indicadas. Las secuencias del dominio variable están con mayúscula inicial. Las secuencias del dominio constante están en minúsculas. Las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 están indicadas usando texto en **negrita y subrayado**. Las CDR1, CDR2 y CDR3 se muestran en orden estándar de aparición de izquierda (extremo N terminal) a derecha (extremo C terminal). Los genes TRAV, TRAJ y TRAC de cada cadena alfa del TCR descrita en la presente, y los genes TRBV, TRBJ y TRBC de cada cadena beta del TCR descrita en la presente, están indicados de acuerdo con la nomenclatura IMGT bien conocida que se describe en la presente. De igual manera, las CDR1 y CDR2 de TRAV y TRBV son bien conocidas en el arte ya que se basan en las secuencias de TRAV y TRBV bien conocidas y descritas (por ejemplo, como se describen en las bases de datos como IMGT disponible en imt.org e IEDB disponible en iedb.org).

Secuencia de ADNc MAGEA1 humano representativa	de de de	Atgtctcttgagcagaggagctgcactgcaagcctgaggaagcccttgaggccaacaagaggccct gggcctgggtgtgtgtgcaggctgccacctcctcctcctccttggtcctgggcaccttgaggagggtgcc cactgtctgggtcaacagatcctccccagagtccctcaggaggcctccgcctttccactaccatcaacttca ctcgacagagggaacccagtgagggttccagcagccgtgaagaggaggggccaagcacctctgtatc ctggagtcctgttccgagcagtaataactaagaagggtggctgatttggttggtttctgctcctaaaatatcga gccaggggagccagtcacaaaggcagaaatgctggagagtgatcaaaaattacaagcactgttttct gagatcttcggcaaagcctctgagtccttgacgtggctcttggcattgacgtgaaggaagcacccccac cggccactcctatgtccttgcacctgcctaggtctcctatgatggcctgctgggtgataatcagatcatgc ccaagacaggcttctgataattgtcctggatcatgattgcaatggagggcgccatgctcctgaggagga aatctgggaggagctgagtgatggagggtgatgatgggagggagcacagtcctatggggagccca ggaagctgctcacccaagatttggtgcaggaaaagtacctggagtaccggcagggtgccggacagtgat ccgcacgctatgagttcctgtggggccaagggccctcgctgaaaccagctatgtgaaagtccttgagta tgtgatcaaggtcagtgca<u>agagttcgcttttctcccatccctgcgtgaagcag</u>ctttgagagagga ggaagagggaggtctga (SEQ ID NO: 39)
Secuencia de proteína MAGEA1 humano representativa	de de	MSLEQRSLHCKPEEALAQQEALGLVCVQAATSSSSPLVLGTL EEVPTAG STDPPQSPQGASAFPTTINFTRQRQPSEGSSSREEEGPSTSCILESLFRAVI TKKVADLVGFLLLKYRAREPVTKAEMLESVIKNYKHCFPEIFGKASESLQLV FGIDVKEADPTGHSYVLVTCLGLSYDGLLDGNQIMPKTGFLIIVLMIAMEG GHAPEEEIWEELSVMEVYDGREHSAYGEPRKLLTQDLVQEKYLEYRQVPD SDPARYEFLWGPRALAETSYVKVLEYVIKVSAR<u>VRFFFPSL</u>REAALREEEE GV* (SEQ ID NO: 40)

Secuencia de ADN de HLA-C*07:02 de humano representativa	Atgcgctcatggctccacgcgccctcctcctgctgctctcagggggcctggccctgaccgagacctggg cctgctcccactccatgcgctatttcgacaccgcccgtgtcccggccaggccggtgagccacgcttcac tcagtgggtacgtggagcagactcagttcgtgcttcgacagcgacgccgagtcctcgcggggag ccacgcgcacccatgggtggagcaggagggggcctgagtattgggaccgcgagacacagaagtacaag cgccaggcacagggtgaccgctgagcctgcgcaacctgcgaggctactacaaccagagcgaggac gggtctcacaccctccagcgcatgtctggctgcgacctggggcctgacgggcgctcctccgcgggtatg accagtccgctacgacggcaaggattacatcgccctgaacgaggacctgcgctcctggaccgcccgt gacaccgcccgtcagatcaccagcgcaagttggaggctgcccgcgccgtgagcagctgcgcccct acctggagggcacatgcgtggagtggctccgcccgtacctggagaacgggaaggagacctgcagcg cgcagaaccaccaaagacacacgtgaccaccaccctctctgacctgaggccaccctgcgctgct gggcccctgggcttctaccctgctgagatcacactgacctggcagcgcatggggaggaccagaccag gacaccgagcttgggagacccgcccagcaggtgatggcaccttcagaagtgggcagctgtgtgtgtg cctctgggcaagagcagcgctacacatgccatgacgacgaggggctgcaagagccactcacct gagctgggagccatctccagccaacctcccaatcatgggcatcgttgctggcctggctgtcctggtgt cctggctgtcctggtgtgtgtggtcaccgctatgatgtgtgcccgaagagctcaggtgggaaaggtggga gctgctctcaggctgcatgcagcaacagtgcccagggtctgatgagctctcatcacttgtaaagcctga (SEQ ID NO: 41)
Secuencia de proteína de HLA-C*07:02 de humano representativa	MRVMAPRALLLLLSGGLALTETWACSHSMRYFDTAVSRPGRGEPFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPAPWVEQEGPEYWDRETQKYKRQAQAD RVSLRNLRGYYNQSEDGSHTLQRMSGCDLGPDRLLRGYDQSAYDGKD YIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLE NGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGED QTQDTELVETRPAGDGTfQKWAAVVPSGQEQRyTCHMQHEGLQEPLTL SWEPSQPTIPIMGIVAGLAVLVVLAVLGAVVTAMMCRRKSSGGKGGSCS QAACSNSAQGSDESLITCKA* (SEQ ID NO: 42)
Vector Representativo (cuya proteína que codifica para el TCR puede ser intercambiada con cualquier	tggaagggttaattcactcccaaagaagacaagatatccttgatctgtggatctaccacacacaaggcta cttccctgattagcagaactacacaccaggccagggtcagatatccactgaccttggatggtgctaca agctagtaccagttgagccagataaggtagaagaggccaataaaggagagaacaccagctgtttacac cctgtgagcctgcatgggatggatgacccggagagagaagtgttagagtgagggttgacagccgccta gcatttcacacgtggcccagagctgcatccggagtactcaagaactgctgatatcgagctgtctacaa gggactttccgctggggactttccaggaggcggtggcctggggcgggactggggagtgggcagccctca gatcctgcatataagcagctgcttttgctgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagct ctctggctaactaggaacccactgcttaagcctcaataaagctgccttgagtgtctcaagtagtgtgtgcc

secuencia de TCR de interés): pTSLV102- MSCV-HA1-10- 30-MGTM-Q-CD8	cgtctgtgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtgg cgcccgaacaggggacttgaaagcgaaagggaaaccagaggagctctctcgacgcaggactcggcttg ctgaagcgcgcacggcaagaggcgagggcgcgactggtgagtacgcaaaaatttgactagcgg aggctagaaggagagagatgggtgagagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgg gaaaaaattcggtaaggccagggggaaagaaaaataaaattaaaacatatagtagggcaagca gggagctagaacgattcgagtaatacctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaactggg acagctacaacatccctcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtagcaaccctct attgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagcttagacaagatagaggaagagca aaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccggcgctgatcttcagacctggaggaggagat atgaggggacaattggagaagtgaattatataaaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcac ccaccaaggcaaagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaataggagctttgttctt tgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcgtcaatgacgctgacggtacaggccagac aattattgtctggtatagtcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttc aactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggat caacagctcctggggatttggggtgctctgaaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagtt ggagtaataaatctctggaacagatttggaaatcacacgacctggatggagtgaggacagagaaattaaca attacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaat tattggaattagataaatgggcaagtttgggaattggttaacataacaaattggctgtggtatataaaattat tcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagttttgctgtactttctatagtagaatagagtaggc agggatattcaccattatcgttcagaccacctccaaccccgaggggacccgacaggccgaagga atagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaaacggatctcgacggt atcgccgaattaattcacaatggcagttatccacaattttaaaagaaaaggggggattggggggta cagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca aattacaaaaattcaaaatttcgggtttattacaggCGcGCcagagatccagtttgacCTgcAGG TGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGtTAGCTTAAGTAACGCCAT TTTGCAAGGCATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATC AAGGTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATC TGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTC CCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATG TTTCCAGGGTGCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAA CTAACCAATCAGTTtGCTTCTtGCTTCTGTTtGtGtGCTTCTGCTCCctGAG CTCAATAAAAGAGCCCAACCCCTCACTtGGtGgGCCAGTCCTCtGAT AGACTGtGTCcCCtGGaTACCCGTAcggtaccgctagcgccacc ATGGGCACCAG CCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGTCTCCTGGGGGCAGATCACGCAG ATACTGGAGTCTCCAGGACCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGA
---	--

	CAGAATGTTACTTTTCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACACAACCGCCTTT ATTGGTACCGCCAGACCCTGGGGCAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTAC TTCCAGAATGAAGCTCAACTTGAAAAATCAAGGCTGCTCAGTGATCGG TTCTCTGCAGAGAGGCCCTAAGGGATCTTTCTCCACCTTGGAGATCCAG CGCACAGAGCAGGGGGACTCTGCCATGTATCTCTGTGCCAGCAGCCG CACTGCTGGAGATACTCAGTATTTTGGCCCAGGCACCCGGCTGACAG TGCTCGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTT GAGCCTTCTaAGGCCGAGATCgcccCACACaCAaAAAGCCACCCTCGTG TGCCTGGCCACCGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAAGTGTCTTGGTGG GTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTGtcAACgGATCCCCAGCCT CTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGACAGCCGGTACTGCCTGAGCTC CAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGGAACCACT TCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGAACGACGAGTGG ACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGTGTCTGCCGAAGC CTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGG GCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCC ACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGATGGCCATGGTC AAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAAGGTCCGGGAGCG GTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGA ACCCCGGACCT<u>ATGGAAACCCTcTTGGGCCTGCTTATCCTTTGGCTGC</u> <u>AGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACTCAGATTCCTGCA</u> <u>GCTCTGAGTGTCCCAGAAGGAGAAAACCTTGTTCTCAACTGCAGTTTC</u> <u>ACTGATAGCGCTATTTACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAGGACCCTGGG</u> <u>AAAGGCCTCACATCTCTGTTGCTTATTCAAGTCAGAGAGAGCAA</u> <u>ACAAGTGGACGCCTTAATGCCTCTCTGGATAAATCATCAGGACGCAGT</u> <u>ACTCTTTACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGTGATTAGCCACCTACCTGT</u> <u>GCGCTGTGAGGGGTGGTACCTCAGGAACCTACAAATACATCTTTGGA</u> <u>ACAGGCACCAGGCTGAAGGTTCTTGCAAACATCCAGAACCCCGACCC</u> <u>CGCCGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGACAAGAGCGTGT</u> <u>GTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGAGTCAAAGCAAG</u> <u>GACAGCGACGTCTACATAACGGATAAGACCGTGCTGGACATGCGGAG</u> <u>CATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCCAACAAGAGCG</u> <u>ACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCATCATCCCCGAGGAC</u> <u>ACCTTCTTCCCCAGCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTGGTGGA</u> <u>GAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTCAGAACCTGCTGGT</u>
--	--

	<u>GATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAATCTGCT</u> <u>GATGACCCTGCGGCTGTGGAGCAGC</u>AGGGCTAAGAGGTCCGGCAGC GGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTGACGTGGAAGAA AACCCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCACCGCGCTGCTGCTGCCCT GGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCGGCCA<u>GAGCTTCCCACCCAGGGCA</u> <u>CATTCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTCGGGAGGCGGCGGATCGTCCC</u> AGTTCAGAGTGTCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTGGGCGAGACC GTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCAACCCGACCTCCGGGTG CAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTGGTGCTGCCGCAAGCCCTACGTTCTT GCTTTACCTGAGCCAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGGGCCTGGACA CCCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTCGTGCTTACTT TGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATTTCTGTTCCGGCGC TGAGCAATTCCATCATGTATTTAGCCACTTTGTGCCAGTGTTCTGCC TGCCAAGCCTACCACAACACCAGCTCCCCGTCCCCGACTCCGGCGC CTACCATCGCGAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGC CCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCCTCGACTTTGCGTGC GACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTACCTGCGGGGTGCTGCTG CTGTCAATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGG GTCTGTAAGTGCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGTCG CTCTCGGCTCGCTACGTGCGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGGGGCCAC CAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGATGTGGAGGAGAATCCAGG GCCA<u>TGCGCCCCAGGCTTTGGCTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGT</u> <u>CTTGCAATGGCAACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCAAGGT</u> <u>GCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGCCAAGATCTCTCT</u> <u>TTCAAATATGAGAATTTATTGGCTACGACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGC</u> <u>GACAGCCACCACGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACC</u> <u>ATCCATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCTTCCGCGAC</u> <u>GCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAGCGTGAAGCCGGAGGACAGC</u> <u>GGCATCTACTTCTGTATGATCGTTGGCTCCCCGAGCTGACCTTCGGC</u> <u>AAAGGCACCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCACACAGCCCAG</u> <u>CCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTGTGCCGACTGCCCCG</u> <u>CCTGAAACCCAGAAGGGCCCTCTGTGCTCCCCATCACCTTGGACTG</u> <u>CTGGTGGCGGGAGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTGCCATC</u> <u>CACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCCGCCCTGAGGTTTATGAAACA</u> <u>GTTTTACAAGT</u>GATAAatcgatagatcctaataaacctctgattacaaaatttgtgaaagattga
--	--

	ctggattcttaactatgttgctcctttacgctatgtggatacgtgctttaatgcctttgatcatgctattgctcc cgtatggcttcatcttctcctcctgtataaatcctggtgctgtctcttatgaggagtgtggcccgtgtcagga aacgtggcgtggtgtgcactgtgttgctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcag ctccttccgggacttctgcttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgcctgcccgtg ctggacaggggctcggctgttgggactgacaattccgtggtgtgtcggggaaatcatcgtccttcttgg ctgctcgctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgtacgtcccttcggccctcaatccagc ggaccttcttcccgcggcctgtgcccgtctgcggccttctccgcttctgccttcgccctcagacgagt cggatctcccttggggcgcctccccgcctgagatccttaagaccaatgactacaaggcagctgtagatc ttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggttaattcactcccaacgaagacaagatctgct tttgctgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactaggaacccac tgcttaagcctcaataaagcttgcttgagtgttgctcaagtagtgtgtgccgtctgtgtgtgactctggttaact agagatccctcagacccttttagtcaggttggaatatcttagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagt attataacttgcaaagaaatgaatatcagagagttagaggccgggttaattaaggaaagggctagatc attctgaagacgaaagggcctcgtgatacgcctattttataggtaatgtcatgataataatggtttctaga cgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgttttctaaatacattcaaatatgta tccgctcatgagacaataaccctgataaatgctcaataatattgaaaaaggaagatgagattcaac atttccgtgtcgccctattccctttttgcggcatttgccttctgttttctcaccagaaacgctggtgaaag taaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacatgaactggatctcaacagcggtaagat ccttgagagttttcgccccgaagaacgtttccaatgatgagcactttaagttctgctatgtggcgcggtatt atcccggttgacgcggggaagagcaactcggtcgcgcatacactattctcagaatgacttggttgagt actcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgtgccataa ccatgagtataactgcggccaacttactctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgctt ttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccatacca aacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaactattaactggcga actacttactctagcttcccggaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttc tgcgctcgcccttccggctgggtgtttattgtgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtat cattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgatcgtagtattctacacgacggggagtcaggca actatggatgaacgaaatagacagatcgtgagataggtgcctcactgattaagcattggttaactgtcag accaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggatgaagatcctt ttgataatctcatgaccaaatacccttaacgtgagtttctgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagat caaaggatcttctgagatcctttttctgcgcgtaaatctgctgcttgcaacaaaaaaaccaccgctacca gcggtggttgttgcggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcag ataccaaatactgttcttagttagccgttagttagccaccactcaagaactctgtagcaccgcctacat acctcgctctgctaactctgttaccagtggctgtgccagtggcgataagtcgtgttaccgggttgactc aagacgatagttaccggataaggcgacggtcgggtgaacggggggtctgtgcacacagcccagc
--	---

		ttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgctcc cgaagggagaaaaggcggacaggtatccggttaagcggcagggctggaacaggagagcgcacgagg gagcttcagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggttcgccacctctgacttgagcgtcgatt tttgtgatgctcgtcaggggggaggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggttcctgg ccttttgctggccttttgctcacatgttcttctgcgttatccCCTGATTCTGTGGATAACCGTAT TACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGA GCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCA AACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCAAGCTCA TGGCTGACTAATTTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCC TCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTTGGAGGCCTAGGC TTTTGCAAAAAGCTCCCCGTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGC GGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGC ACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATT GTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACATGATTACGA ATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCA AACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGATCAACTGGATAACTCAAGCT AACCAAAATCATCCCAAACCTTCCACCCCATACCCTATTACCACTGCCA ATTACCTGTGGTTTCATTTACTCTAAACCTGTGATTCTCTGAATTATTTT CATTTTAAAGAAATTGTATTTGTTAAATATGTACTACAAACTtagtagt (SEQ ID NO: 43)
Secuencia ADNc MAGEC2 humano representativa	de	Atgcctcccgttccaggcgttccattccgcaacgttgacaacgactccccgacctcagttgagttagaaga ctgggtagatgcacagcatcccacagatgaggaagaggaggaagcctcctccgctcttccactttgtac ttagtattttccccctcttcttccacatcctctctctgattcttggtggtcctgaggaggaggaggtgcctct ggtgtgataccaaatcttaccgagagcattcccagtagtcctccacagggctctccacagggctctccca gagtcctctgagctcctgctgctccttttcatggagctcattcagtgaggagtcagcagccagaaagg ggaggatacaggcacctgtcagggcctgccagacagtgagtcctctttcacatatacactagatgaaaa ggtggccgagttagtggagttcctgctcctcaaatacgaagcagaggagcctgtaacagaggcagagat gctgatgattgtcatcaagtacaaagattacttctgtgatactcaagagagcccgtgagttcatggagctt <u>cttttggccttgccctgatagaagtgggccctgaccacttctgtgtgttgcaaacacagtaggcctcaccg</u> atgagggtagtgtatgagggcatgcccgagaacagcctcctgattattctgagtgatcttataa agggaactgtcctctgaggaggtcatctggaagtgtgaatgcagtaggggtatatgtgggaggg agcacttcgtctatggggagcctaggagctcctcactaaagtttgggtgcagggaacattacctggagtat cgggaggtgccccacagttctcctcatattatgaattcctgtgggtccgagagcccattcagaaagcat caagaagaaagtactagagtttttagccaagctgaacaacactgttcttagttccttccatcctgtgtaaa

	ggatgctttgaaagatgtggaagagagagtgccaggccacaattgataccgcagatgatgccactgtcatg gccagtgaaagcctcagtgatgtccagcaacgtctcctttctgagtga (SEQ ID NO: 44)
Secuencia de proteína MAGEC2 de humano representativa (Epitopes representativos no limitantes subrayados)	MPPVPGVPFRNVDNDSPTSVELEDWVDAQHPTDEEEEEASSASSTLYLVF SPSSFSTSSSLILGGPEEEVPSGVIPNLTESIPSSPPQGPPQGPSQSPLSS CCSSFWSSSFSEESSSQKGEDTGTCQGLPDSESSFTYTLDEKVAELVEFL LLKYEAEEPVTEAEMLMIVIKYKDYFPVILK <u>RAREFMELLFGLALIEV</u> GPDPHF <u>CVF</u> ANTVGLTDEGSDDEGMPENSLIIILSVIFIKGNCASEEVIWEVLNAVGV YAGREHFVYGEPRELLTKVWVQGHYLEYREVPHSSPPYYEFLWGPRAH ESIKKKVLEFLAKLNNTVPSSFPSWYKDALKDVEERVQATIDTADDATVMA SELSVMSSNVSFSE (SEQ ID NO: 45)
Secuencia de ADN de HLA-B*07:02 de humano Representativa	Atgctggcatggcgccccgaaccgtcctcctgctgctctcggcggccctggccctgaccgagacctggg ccggctccactccatgaggtatttctacacctccgtgtcccgccccggcgcgaggagccccgcttcac tcagtgggtacgtggacgacacccagttcgtgaggttcgacagcgacgccgcgagtcgagagagga gccgcgggcgccgtggatagagcaggaggggcccggagtattgggaccggaacacacagatctacaa ggccaggcacagactgaccgagagagcctgcggaacctgcgcggctactacaaccagagcgagg ccgggtctcacaccctccagagcatgtacggctgcgacgtggggccggacggggcgctcctccgcggg catgaccagtacgcctacgacggcaaggattacatgcctgaacgaggacctgcgctcctggaccgc cgcgacacggcggtcagatcaccagcgcaagtgggaggcgggccgtgaggcgagcagcgga gagcctacctggaggggcgagtgctggagtggtccgcagatacctggagaacgggaaggacaagct ggagcgctgacccccaaagacacacgtgaccaccaccatctctgacctgaggccaccctg aggtgctgggcccgtggttctacctgcggagatcacactgacctggcagcgggatggcgaggacca actcaggacactgagcttgaggagaccagaccagcaggagatagaacctccagaagtgggcagctgt ggtggtgccttctggagaagagcagagatacacatgccatgtacagcatgaggggtgccgaagcccc tcaccctgagatgggagccgtcttccagtcaccgtcccatcggtggcattgtgctggcctggctgtcct agcagttgtggtcatcgagctgtggtcgctgctgtgatgtgtaggaggaagagttcaggtggaaaagga gggagctactctcaggctgcgtgcagcgacagtgcccagggtctgatgtgtctctcacagcttga (SEQ ID NO: 46)
Secuencia de proteína HLA-B*07:02 de	MLVMAPRTVLLLLSAALALTETWAGSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWDRNTQIYKAQAQTDR ESLRNLRGYYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHDQYAYDGKDYI ALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRYLE

humano representativa	NGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGED QTQDTELVETRPAGDRTFQKWAAVVVPSEEQRYTCHVQHEGLPKPLTL RWEPSQSTVPIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVAAVMCRRKSSGGKGGSYSQ AACSDSAQGSVDLSLA (SEQ ID NO: 47)
Secuencia de proteína VPH16 E7 representativa (Epitopes representativos no limitantes subrayados)	MHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAGQAEPDRA HYNIVTFCKCDSTLRCLVQSTHVDIRLTLEDLLMGTGLIVCPICSQKP (SEQ ID NO: 48)
Secuencia de ADN (CDS) de HLA-A*02:01 de humano representativa	ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTCGTCCTGCTACTCTCGGGGGCT CTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTC TTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGC AGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCTGTGCGGTTTCGACAGCGACG CCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGA GGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGAGACACGGAAAGTGAAGGCCCACT CACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAAC CAGAGCGAGGCCGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGA CGTGGGGTTCGGAAGTGGCGCTTCTCCGCGGGTACCACCAGTACGCCT ACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCTCTTGA CCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGAGGCG GCCCATGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGT GGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGC GCACGGACGCCCCCAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACC ATGAAGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGA TCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCAGGACACG GAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTG GGCGGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCC ATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGCCCCTCACCTGAGATGGGAGC CGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGG TTCTCTTTGGAGCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTTCGCTGCTGTGATGTG

	GAGGAGGAAGAGCTCAGATAGAAAAGGAGGGAGCTACTCTCAGGCTG CAAGCAGTGACAGTGCCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGTA AAGTGTGA (SEQ ID NO: 49)
Secuencia de proteína de HLA-A*02:01 de humano representativa	MAVMAPRTLVLALLSGALALTQTWAGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTH RVDLGLTRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSWDRFLRGYHQYAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTHKHWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYL ENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGE DQTQDTELVETRPAGDGTGFKWAAVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLT LRWEPSSQPTIPVGIAGLVLFGAVITGAVVAAMWRRKSSDRKGGSSYSQ AASSDSAQGSVDVSLTACKV (SEQ ID NO: 50)
Vector representativo (cuya proteína que codifica para el TCR puede ser intercambiada con cualquier secuencia de TCR de interés): pHAGE-MSCV-E7-11-28-P2A-dnTGFbRII	tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatatccttgatctgtggaatctaccacacacaaggcta cttccctgattagcagaactacacaccagggccaggggtcagatatccactgacctttgatggtgctaca agctagtaccagttgagccagataaggtagaagaggccaataaaggagagaaacaccagctgttacac cctgtgagcctgcatgggatggatgacccggagagagaagtgttagagtggaggttgacagccgccta gcatttcacacgtggcccgagagctgcatccggagtactcaagaactgctgatatcgagctgtctaaa gggactttccgctggggactttccagggaggcgtggcctgggaggactggggagtggcgagccctca gatcctgcatataagcagctgcttttgcctgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagct ctctggctaactaggaacccactgcttaagcctcaataaagctgccttgagtgttcaagtagtgtgtgcc cgtctgtgtgtgactctggttaactagagatccctcagacccttttagtcagtggtgaaaaatcttagcagtg cgcccgaaacagggacttgaaagcgaaagggaaaccagaggagctctctcgacgcaggactcggttg ctgaagcgcgacggcaagaggcgagggcgcgactggtgagtagccaaaaatttgactagcgg aggctagaaggagagagatgggtgagagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgg gaaaaaattcggttaaggccagggggaaagaaaaataaaataaaacatatagtagggcaagca gggagctagaacgattcgagttatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaatactggg acagctacaacctccctcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtagcaaccctct attgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagcttagacaagatagaggaagagca aaacaaaagtaagaccaccgcagcaagcgccggcggctgatcttcagacctggaggaggagat atgagggacaattggagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcac ccaccaaggcaaagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtggaataggagctttgttct tgggttctgggagcagcaggaagcactatgggcgagcgtcaatgacgctgacggtacaggccagac aattattgtctgttagtgagcagcagacaatttgctgagggtattgaggcgcaacagcatctgtgc aactcacagctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaagatacctaaaggat

	caacagctcctggggatttggggtgctctggaaaactcatttgaccactgctgtgccttgaatgctagtt ggagtaataaatctctggaacagatttgaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaaca attacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaat tattggaattagataaatgggcaagtttggaattggttaacataacaaattggctgtggtatataaaattat tcataatgatagtaggaggcttgtaggttaagaatagttttgctgtactttctatagtgaatagagttaggc agggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccgacaggcccgaaagga atagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatctcgacggt atcgccgaattaattcacaaatggcagttatccacaattttaaaagaaaaggggggattggggggta cagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca aattacaaaaattcaaaattttcgggtttattacaggCGcGCcagagatccagtttgacCTgcAGG TGAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGtTAGCTTAAGTAACGCCATT TTGCAAGGCATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAA GGTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGT GGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCC AGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTC CAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAA CCAATCAGTTtGCTTCTtGCTTCTGTTtGtGtGCTTCTGCTCCCTGAGCTCAA TAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTtGGtGgGCCAGTCCTCtGATAGACTGt GTCcCCtGGaTACCCGTAcggtaccgctagcgccaccatggatacctggctcgtgtgtgggcc atctttagcctgctgaaggccggactgaccgagcctgaagtgaccagactccaagccatcaagtgact cagatggggcaagaagtcatctgctgtgctgcccacagcaaccacctgtacttttattggtatcgccag atcctggggcagaaagtgaattcctggtgtccttctacaacaatgagatctccgagaagtccgagatctc gacgaccagttctccgtggaaagacccgacggcagcaacttcacactgaagatccggtctacaaaactt gaggactccgctatgtattttgtgcAATCACAGGTCGCGTTTCATATGAGCAATATTT CGGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGAAGATCTGAACAAGGTGT TCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTTCGAGCCTTCTAAGGCCGAGATCGCCC ACACACAAAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCACCGGCTTTTTTCCCCG ACCACGTGGAAGTGTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCG GCGTGTCAACGGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACG ACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCT GGCAGAACCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTTACGGCC TGAGCGAGAACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACA CAAATCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACC AGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAA ATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTG
--	---

	GTGCTGATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGC CAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACaagccg gCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTatgctgctgatcacctccatgctggtgctgtgga tgcagctgagccaagtgaacggccagcaagtgatgcagatccctcagtagaccagcacgtgcaagaagg cgaggacttcaccacactgcaacagcagcaccacactgagcaacatccagtgggtacaagcagcgg cctggcggacaccctgtgttctgatccagctggtcaagtccggcgaagtgaagaagcagaagcggctg accttcagttcggcgaggccaagaagaacagcagcctgcacatcacggccacacagaccacagatg tgggcacacttctTGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACACCGGTAAGCTCATC TTTGGGCAAGGGACAACCTTTACAAGTAAAACCAGacatccagaacccccgacccc gccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagcc agaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgtggacatgcg gagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgacttcgctgcgccaac gccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttctccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaa ctggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaacttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggat tctgctgCTGAAAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTG GAGCAGCAGGGCTAAGAGGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCT GCTGAAACAGGCTGGTGACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGGTC GGGGGCTGCTCAGGGGCCTGTGGCCGCTGCACATCGTCCTGTGGACG CGTATCGCCAGCACGATCCCACCGCACGTTTCAAGTTCGGTTAATAA CGACATGATAGTCACTGACAACAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAAC GTGTAAATTTTGTGATGTGAGATTTTCCACCTGTGACAACCAGAAATC CTGCATGAGCAACTGCAGCATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCACAGG AAGTCTGTGTGGCTGTATGGAGAAAGAATGACGAGAACATAACACTA GAGACAGTTTGCCATGACCCCAAGCTCCCCTACCATGACTTTATTCTG GAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCATTATGAAGGAAAAAAAAAAGCC TGGTGAGACTTTCTTCATGTGTTCTGTAGCTCTGATGAGTGCAATGA CAACATCATCTTCTCAGAAGAATATAACACCAGCAATCCTGACTTGTT GCTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCAGCCTCCTGCCACCACTGGG AGTTGCCATATCTGTCATCATCATCTTCTACTGCTACCGCGTTaaccggc agcagaagTAGTGATAAatcgatagatcctaataacctctggattacaaaatttgtgaaagattga ctggtattcttaactatgttgctcctttacgctatgtggatacgtgcttaatgcctttgatcatgctattgctcc cgtatggccttcattttctcctcctgtataaatcctggtgctgtctcttatgaggagttgtggcccggtgacagg aacgtggcgtggtgtgactgtgtttgctgacgcaacccccactggtggggcattgccaccacctgtcag ctcctttccgggactttcgctttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttcccgcgtg ctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgtgtcggggaaatcatcgctccttcttgg
--	--

	TACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGA GCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCA AACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCAAGCTCA TGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCC TCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGC TTTTGCAAAAAGCTCCCCGTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGC GGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGC ACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATT GTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACATGATTACGA ATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCA AACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGATCAACTGGATAACTCAAGCT AACCAAAATCATCCCAAACCTTCCCACCCCATACCCTATTACCACTGCCA ATTACCTGTGGTTTCATTTACTCTAAACCTGTGATTCTCTGAATTATTTT CATTTTAAAGAAATTGTATTTGTAAATATGTACTACAAACTtagtagt (SEQ ID NO: 51)
Vector representativo (cuya proteína que codifica para el TCR puede ser intercambiada con cualquier secuencia de TCR de interés):	GAATTCGTGACGCTAGCTGGCTTGTTGTCCACAACCATTAAACCTTAA AAGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTTTTTTTTCTTATAAACTTAAACCTT AGAGGCTATTTAAGTTGCTGATTTATATTAATTTTATTGTTCAAACATGAG AGCTTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGAGCTT AGTACATTAGCCATGAGGGTTTAGTTCATTAAACATGAGAGCTTAGTAC ATTAAACATGAGAGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGAT CTGTACAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAAATATTGAGTTGCGCA CATCTTGTTGTCTGATTATTGATTTTTTGGCGAAACCATTTGATCATATGA CAAGATGTGTATCTACCTTAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTAGGT ACCAATTACATTGCTTGCAATTAACCCTTTAACGGTTATAAGGATCTAGA TGAGATAGAAAGATTTGGTTTTTCGGATTTGTGTTACATAAGATGCCTAAA ATAAAAATTGAGATTCAATTTTTTTTTTAACTTTTTTTTTAATTGGTGGTAAG AATATTCCCTCTACCTGTTTGAGAGTAATGAAATTGTAGTATGATTTTTTC AACAACTAAAAAACATAAATCTCACATAATACTTTATTTCAATCA CACAATTGAATACCAATAGGTTGACAGTACTTACCAGCCTGCAGGT GAA AGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCTTAAGTAACGCCATTTTG CAAGGCATGGAAAATACATACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAG GTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGT GGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCC

AGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTC
 CAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAA
 CCAATCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTTTGTGTGCTTCTGCTCCCTGAGC
 TCAATAAAAGAGCCCCACAACCCCTCACTTGGTGGGCCAGTCCTCTGAT
 AGACTGTGTCCCCTGGATACCCGTACGGTACCGCTAGCGCCACCATG
 GATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAGCCTGCTGAAGGCCGG
 ACTGACCGAGCCTGAAGTGACCCAGACTCCAAGCCATCAAGTGACTC
 AGATGGGGCAAGAAGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATCAGCAACCAC
 CTGTACTTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGGGCCAGAAAGTGGAATTC
 CTGGTGTCTTCTACAACAATGAGATCTCCGAGAAGTCCGAGATCTTC
 GACGACCAGTTCTCCGTGGAAAGACCCGACGGCAGCAACTTCACACT
 GAAGATCCGGTCTACCAAACCTTGAGGACTCCGCTATGTATTTTTGTGC
 AATCACAGGTCGCGTTTCATATGAGCAATATTCGGGCCGGGCACCA
 GGCTCACGGTCACAGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCCTCCAGAGGTG
 GCCGTGTTTCGAGCCTTCTAAGGCCGAGATCGCCCACACACAAAAAGC
 CACCCTCGTGTGCCTGGCCACCGGCTTTTTCCCGACCACGTGGAAC
 GTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTGTCAACGG
 ATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGACAGCCGGTAC
 TGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCC
 CCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGA
 ACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGT
 GTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCT
 CCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTG
 CTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCT
 GATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAA
 GGTCCGGGAGCGGTGCGACAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGC
 GACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTATGCTGCTGATCACCTCCATGCTG
GTGCTGTGGATGCAGCTGAGCCAAGTGAACGGCCAGCAAGTGATGCA
GATCCCTCAGTACCAGCACGTGCAAGAAGGCGAGGACTTCACCACCT
ACTGCAACAGCAGCACCACACTGAGCAACATCCAGTGGTACAAGCAG
CGGCCTGGCGGACACCCTGTGTTTCTGATCCAGCTGGTCAAGTCCGG
CGAAGTGAAGAAGCAGAAGCGGCTGACCTTCAGTTCGGCGAGGCC
AAGAAGAACAGCAGCCTGCACATCACCGCCACACAGACCACAGATGT
GGGCACCTACTTCTGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACACCGGTAAGC
TCATCTTTGGGCAAGGGACAACCTTACAAGTAAAACCAGACATCCAGA

	<u>ACCCCGACCCCGCCGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGAC</u> <u>AAGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGAG</u> <u>TCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACATAACGGATAAGACCGTGCTGG</u> <u>ACATGCGGAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCC</u> <u>AACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCATCAT</u> <u>CCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGA</u> <u>AACTGGTGGAGAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTAG</u> <u>AACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCTGAAAGTGGCCGG</u> <u>CTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGAGCAGC</u>AGGGCTAAGA GGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTG ACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCACCGCGCTG CTGCTGCCCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCGGCCAGAGCTTCCC <u>ACCCAGGGCACATTCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTGCGGGAGGCGGG</u> GGATCGTCCCAGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTG GGCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCAACCCGAC CTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTGGTGCTGCCGCAAGCC CTACGTTCTGCTTTACCTGAGCCAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGG GCCTGGACACCCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTC GTGCTTACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATTTCT GTTGCGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTACGCCACTTTGTGCCAGT GTTCTGCTGCCAAGCCTACCACAACACCAGCTCCCCGTCCCCCGAC TCCGGCGCCTACCATCGCGAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGG CTTGTCGGCCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCTCGAC TTTGCCTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTACCTGCGGG GTGCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAACC GCCGGCGGGTCTGTAAGTGCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGAC AAACCGTCGCTCTCGGCTCGCTACGTGCGCGCTAAGCGCAGCGGTTT CGGGGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGATGTGGAGGA GAATCCAGGGCCCCATGCGCCCCAGGCTTTGGCTCCTTCTTGCTGCTCA <u>GCTCACTGTCTTGTCATGGCAACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTA</u> <u>CATCAAGGTGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGCCAA</u> <u>GATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTACGACAGCGCCAGGCC</u> <u>CCCTCCAGCGACAGCCACCACGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCT</u> <u>AAAGGCACCATCCATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTC</u> <u>TTCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAGCGTGAAGCCG</u>
--	--

	<u>GAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATGATCGTTGGCTCCCCGAGCTG</u> <u>ACCTTCGGCAAAGGCACCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACC</u> <u>ACAGCCCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTGTGCCGA</u> <u>CTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTCTGTGCTCCCCATCACC</u> <u>CTTGGA CTGCTGGTGGCGGGAGTCCTGGTGTGCTCGTATCTCTGGGT</u> <u>GTCGCCATCCACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCTGAGGTT</u> <u>TATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAATCGATGGAAGGGTGGCATCCCTG</u> TGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGT GCCCACCAGCCTTGTCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACT AGGTGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCA AGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGG GAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCC GCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTG GGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTGGT AGAGACGGGGTTTCACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACCTCCTAAT CTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGG CGTGAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCTTCTGATTACTAGTGGCTCCGG TGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGT TGTGGGGAGGGGTCTGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGC GGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCC GAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTT CTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGT GGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCT TGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTC GGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCC CCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGA TAAGTCTCTAGCCATTTAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTT TCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTAT TTCGGTTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCCTGCGTCCCAGC GCACATGTTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATC GGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCT CGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCCG TCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGC TGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCG
--	---

	GGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTC GCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGAT TAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGG TTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTA GGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGA GTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTT TTCTTCCATTTTCAGGTGTCTGTGAAGTAGTCCAGTGTGGTGGAAATTCTGC AGATATCACGGCTAGCGCCACCATGGGTCTGGGGGCTGCTCAGGGGCC TGTGGCCGCTGCACATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACGATCC CACCGCACGTTCAGAAGTCGGTGAATAACGACATGATAGTCACTGACA ACAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAAGTGTGTAAATTTTGTGATGTGAG ATTTTCCACCTGTGACAACCAGAAATCCTGCATGAGCAACTGCAGCATC ACCTCCATCTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTATGGAGA AAGAATGACGAGAACATAACACTAGAGACAGTTTGCCATGACCCCAAG CTCCCCTACCATGACTTTATTCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCA TTATGAAGGAGAAGAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTCATGTGTTCTG TAGCTCTGATGAGTGCAATGACAACATCATCTTCTCAGAAGAATATAAC ACCAGCAATCCTGACTTGTTGCTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCA GCCTCCTGCCACCACTGGGAGTTGCCATATCTGTCATCATCATCTTCTA CTGCTACCGCGTGAACCGGCAGCAGAAGGCTAGTGGTTCAGGCGCAA CGAATTTCTCTTTGCTGAAGCAGGCTGGGGATGTGAAGAAAATCCGG GTCCAATGGTGGGCTCGCTCAACTGCATCGTAGCAGTCTCCAGAATA TGGGCATCGGGAAGAACGGTGATTTCCCGTGGCCCCCACTTCGCAACG AGAGCCGTTATTTCCAAAGAATGACTACAACCTCCTCCGTGGAGGGTAA GCAGAACCTGGTCATCATGGGGAAGAAGACCTGGTTCTCTATCCCTGA AAAAAACCGCCCCCTGAAGGGCCGCATCAACCTGGTGTGAGCAGGG AACTCAAGGAGCCTCCTCAGGGCGCGCATTTTCTGAGCCGCTCATTGG ATGACGCTCTCAAAGTACCGAACAGCCGGAGCTAGCCAACAAGGTGG ACATGGTGTGGATCGTCGGAGGCTCCTCCGTGTACAAGGAGGCCATGA ATCACCCCGGCCACTTGAAGCTGTTCTGTCACCCGGATCATGCAGGACT TCGAGTCGGACACGTTCTTTCCAGAGATTGACCTGGAGAAGTACAAGC TGCTGCCCCGAGTACCCGGGAGTTCTTAGTGATGTGCAGGAGGAGAAAG GCATCAAGTACAAATTTGAGGTGTACGAGAAGAACGACTAACGGTCCG TCCTGACCAATGCTGGAGTTCTTCGCCACCCCAACTTGTTTATTGCAG CTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAA
--	--

	GCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGT ATCTTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTCAGTCTCCTAGGTACGTCTTA TATCTATGAAAAACATTCAAAGCACAAACATCTAGAAGAACTTACCTTT TTTCACCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAAGTACAAA AAACCGCTAGTTTTCAAATTCACCTCAAGACTTTGAAAAAAATTGAATC TGTCAATGTCAAATAAAATCAGAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATG TTGTCAGGTCGAAAAATAAAATTGCAAATAGAAATTTTGTTCCTTTTTTAT TGGTTTTTATTGGTGGGAAAAATATTCCCTCTAACTGCAAAGGGTTAAT TATGTTAGAGGTAGAGTCGACAAGCTT (SEQ ID NO: 50) Mapa del vector pNVVD154_TSC-200-A02_TCR-28_MSCV-TCR28-CD8- EF1a-TGFR-DHFR GAATTCGTCGACGCTAGCTGGCTTGTTGTCCACAACCATTAACCTTAA AAGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTTTTTTTTCTTATAAACTTAAACCTT AGAGGCTATTTAAGTTGCTGATTTATATTAATTTTATTGTTCAAACATGAG AGCTTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGAGCTT AGTACATTAGCCATGAGGGTTTAGTTCATTAAACATGAGAGCTTAGTAC ATTAAACATGAGAGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGAT CTGTACAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAATATTGAGTTCGCA CATCTTGTTGTCTGATTATTGATTTTTTGGCGAAACCATTTGATCATATGA CAAGATGTGTATCTACCTTAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTAGGT ACCAATTACATTGCTTGCAATTAACCCTTTAACGGTTATAAGGATCTAGA TGAGATAGAAAGATTTGGTTTTTCGGATTTGTGTTACATAAGATGCCTAAA ATAAAAATTGAGATTCAATTTTTTTTAACTTTTTTTTAAATTGGTGGTAAG AATATTCCCTCTACCTGTTTGAGAGTAATGAAATTGTAGTATGATTTTTTC AACAACTAAAAAACAACATAAATCTCACATAATACTTTATTTCAATCA CACAATTGAATACCAATAGGTTGACAGTACTTACCAGCCTGCAGGTGAA AGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCTTAAGTAACGCCATTTTG CAAGGCATGGAAAATACATACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAG GTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGT GGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCC AGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTC CAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAA CCAATCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTTTGTGTGCTTCTGCTCCCTGAGC
--	--

TCAATAAAAGAGCCCAACAACCCCTCACTTGGTGGGCCAGTCCTCTGAT
 AGACTGTGTCCCCTGGATACCCGTACGGTACCGCTAGCGCCACCATG
 GATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAGCCTGCTGAAGGCCGG
 ACTGACCGAGCCTGAAGTGACCCAGACTCCAAGCCATCAAGTGACTC
 AGATGGGGCAAGAAGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATCAGCAACCAC
 CTGTACTTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGGGCCAGAAAGTGGAATTC
 CTGGTGTCCCTTCTACAACAATGAGATCTCCGAGAAGTCCGAGATCTTC
 GACGACCAGTTCTCCGTGGAAAGACCCGACGGCAGCAACTTCACACT
 GAAGATCCGGTCTACCAAACCTTGAGGACTCCGCTATGTATTTTTGTGC
 AATCACAGGTCGCGTTTTCATATGAGCAATATTTCTGGGCCGGGCACCA
 GGCTCACGGTCACAGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCCTCCAGAGGTG
 GCCGTGTTGAGCCTTCTAAGGCCGAGATCGCCACACACAAAAAGC
 CACCCTCGTGTGCCTGGCCACCGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAAC
 GTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTGTCAACGG
 ATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGACAGCCGGTAC
 TGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCC
 CCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGA
 ACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGT
 GTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCT
 CCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTG
 CTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCT
 GATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAA
 GGTCCGGGAGCGGTGCGACAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGC
 GACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTATGCTGCTGATCACCTCCATGCTG
GTGCTGTGGATGCAGCTGAGCCAAGTGAACGGCCAGCAAGTGATGCA
GATCCCTCAGTACCAGCACGTGCAAGAAGGCGAGGACTTCACCACCT
ACTGCAACAGCAGCACCACTGAGCAACATCCAGTGGTACAAGCAG
CGGCCTGGCGGACACCCTGTGTTTCTGATCCAGCTGGTCAAGTCCGG
CGAAGTGAAGAAGCAGAAGCGGCTGACCTTCAGTTCGGCGAGGCC
AAGAAGAACAGCAGCCTGCACATCACCGCCACACAGACCACAGATG
GGGCACCTACTTCTGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACACCGGTAAGC
TCATCTTTGGGCAAGGGACAACTTTACAAGTAAAACCAGACATCCAGA
ACCCCGACCCCGCCGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGAC
AAGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGAG
TCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACATAACGGATAAGACCGTGCTGG

	<u>ACATGCGGAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCC</u> <u>AACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCATCAT</u> <u>CCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGA</u> <u>AACTGGTGGAGAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTCAG</u> <u>AACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCTGAAAGTGGCCGG</u> <u>CTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGGCTGTGGAGCAGC</u>AGGGCTAAGA GGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTG ACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCACCGCGCTG CTGCTGCCCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCGGCCAGAGCTTCCC <u>ACCCAGGGCACATTCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTCTGGGAGGCGGC</u> GGATCGTCCCAGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTG GGCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCAACCCGAC CTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTGGTGCTGCCGCAAGCC CTACGTTCCCTGCTTTACCTGAGCCAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGG GCCTGGACACCCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTC GTGCTTACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATTTCT GTTCTGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTACGCCACTTTGTGCCAGT GTTCTGCTGCCAAGCCTACCACAACACCAGCTCCCCGTCCCCGAC TCCGGCGCCTACCATCGCGAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGG CTTGTCGGCCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGGCCTCGAC TTTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTACCTGCGGG GTGCTGCTGCTGTCAATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAACC GCCGGCGGGTCTGTAAGTGCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGAC AAACCGTCGCTCTCGGCTCGCTACGTGCGCGCTAAGCGCAGCGGTTTC CGGGGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGATGTGGAGGA GAATCCAGGGCCC<u>ATGCGCCCCAGGCTTTGGCTCCTTCTTGCTGCTCA</u> <u>GCTCACTGTCTTGCTGCACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTA</u> <u>CATCAAGGTGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTGCTGCGAGGCCAA</u> <u>GATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTACGACAGCGCCAGGCC</u> <u>CCCTCCAGCGACAGCCACCACGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCT</u> <u>AAAGGCACCATCCATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTC</u> <u>TTCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAGCGTGAAGCCG</u> <u>GAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATGATCGTTGGCTCCCCGAGCTG</u> <u>ACCTTCGGCAAAGGCACCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCACC</u> <u>ACAGCCCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTGTGCCGA</u>
--	--

	<u>CTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGGCCCTCTGTGCTCCCCCATCACC</u> <u>CTTGGA</u><u>CTGCTGGTGGCGGGAGTCCTGGT</u><u>GCTGCTCGTATCTCTGGGT</u> <u>GTCGCCATCCACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCCGCCCTGAGGTT</u> <u>TATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAATCGATGGAAGGGTGGCATCCCTG</u> TGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGT GCCCACCAGCCTTGTCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTTGTCTGACT AGGTGTCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCA AGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGG GAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCC GCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTG GGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGT AGAGACGGGGTTTTACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACCTCCTAAT CTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGG CGTGAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCCTTCTGATTACTAGTGGCTCCGG TGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGT TGTGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGC GGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCC GAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTT CTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGT GGTCCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCCT TGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTC GGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCC CCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGA TAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTT TCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTAT TTCGGTTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGC GCACATGTTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATC GGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCT CGCGCCGCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGG TCGGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGC TGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCG GGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTC GCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGAT TAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGG
--	---

	TTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTA GGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGA GTTTGGATCTTGGTTCAATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTT TTCTTCCATTTTCAGGTGTCGTGAACTAGTCCAGTGTGGTGGAAATTCTGC AGATATCACGGCTAGCGCCACCATGGGTGCGGGGGCTGCTCAGGGGCC TGTGGCCGCTGCACATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACGATCC CACCGCACGTTTCAGAAGTCGGTGAATAACGACATGATAGTCACTGACA ACAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAACCTGTGTAAATTTTGTGATGTGAG ATTTTCCACCTGTGACAACCAGAAATCCTGCATGAGCAACTGCAGCATC ACCTCCATCTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTATGGAGA AAGAATGACGAGAACATAACACTAGAGACAGTTTGCCATGACCCCAAG CTCCCCTACCATGACTTTATTCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCA TTATGAAGGAGAAGAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTCATGTGTTCTGT TAGCTCTGATGAGTGCAATGACAACATCATCTTCTCAGAAGAATATAAC ACCAGCAATCCTGACTTGTTGCTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCA GCCTCCTGCCACCACTGGGAGTTGCCATATCTGTCATCATCATCTTCTA CTGCTACCGCGTGAACCGGCAGCAGAAGGCTAGTGGTTCAGGCGCAA CGAATTTCTCTTTGCTGAAGCAGGCTGGGGATGTCGAAGAAAATCCGG GTCCAATGGTGGGCTCGCTCAACTGCATCGTAGCAGTCTCCAGAATA TGGGCATCGGGAAGAACGGTGATTTCCCGTGGCCCCCACTTCGCAACG AGAGCCGTTATTTCCAAAGAATGACTACAACCTCCTCCGTGGAGGGTAA GCAGAACCTGGTCATCATGGGGAAGAAGACCTGGTTCTCTATCCCTGA AAAAAACCGCCCCCTGAAGGGCCGCATCAACCTGGTGCTGAGCAGGG AACTCAAGGAGCCTCCTCAGGGCGCGCATTTTCTGAGCCGCTCATTGG ATGACGCTCTCAAACCTGACCGAACAGCCGGAGCTAGCCAACAAGGTGG ACATGGTGTGGATCGTCGGAGGCTCCTCCGTGTACAAGGAGGCCATGA ATCACCCCGGCCACTTGAAGCTGTTTCGTACCCGGATCATGCAGGACT TCGAGTCGGACACGTTCTTTCCAGAGATTGACCTGGAGAAGTACAAGC TGCTGCCCCGAGTACCCGGGAGTTCTTAGTGATGTGCAGGAGGAGAAAG GCATCAAGTACAAATTTGAGGTGTACGAGAAGAACGACTAACGGTCCG TCCTGACCAATGCTGGAGTTCTTCGCCACCCCAACTTGTTTATTGCAG CTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAA GCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGT ATCTTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTCAGTCTCCTAGGTACGTCTTA TATCTATGAAAAACATTCAAAAGCACACATCTAGAAGAACTTACCTTT
--	---

	TTTCACCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAAGTACAAA AAACCGCTAGTTTTTCAAATTCACCTCAAGACTTTGAAAAAAATTGAATC TGTCAATGTCAAATAAAATCAGAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATG TTGTCAGGTCGAAAAATAAAATTGCAAATAGAAATTTTGTTCCTTTTTTAT TGGTTTTTATTGGTGGGAAAAATATTCCCTCTAACTGCAAAGGGTTAAT TATGTTAGAGGTAGAGTCGACAAGCTT Mapa del vector pNVVD154_TSC-200-A02_TCR-28_MSCV-TCR28-CD8- EF1a-TGFR-DHFR Created with SnapGene® Clave: CD: agrupamiento de diferenciación RNA-OUT: ARN antisentido contra la levansacarasa bacteriana codificada por sacB. SV: virus de simio TCR: Receptor de célula T, TIR: repetición invertida terminal, QBend: anticuerpo de ratón anti-CD34 de humano, dnTGFbRII: Receptor TGF beta II dominante negativo, DHFR: marcador de selección Dihidrofolato reductasa
Vector representativo (cuya proteína	GAATTCGTCGACGCTAGCTGGCTTGTTGTCCACAACCATTAAACCTTAA AAGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTTTTTTTTCTTATAAACTTAAACCTT AGAGGCTATTTAAGTTGCTGATTTATATTAATTTTATTGTTCAAACATGAG

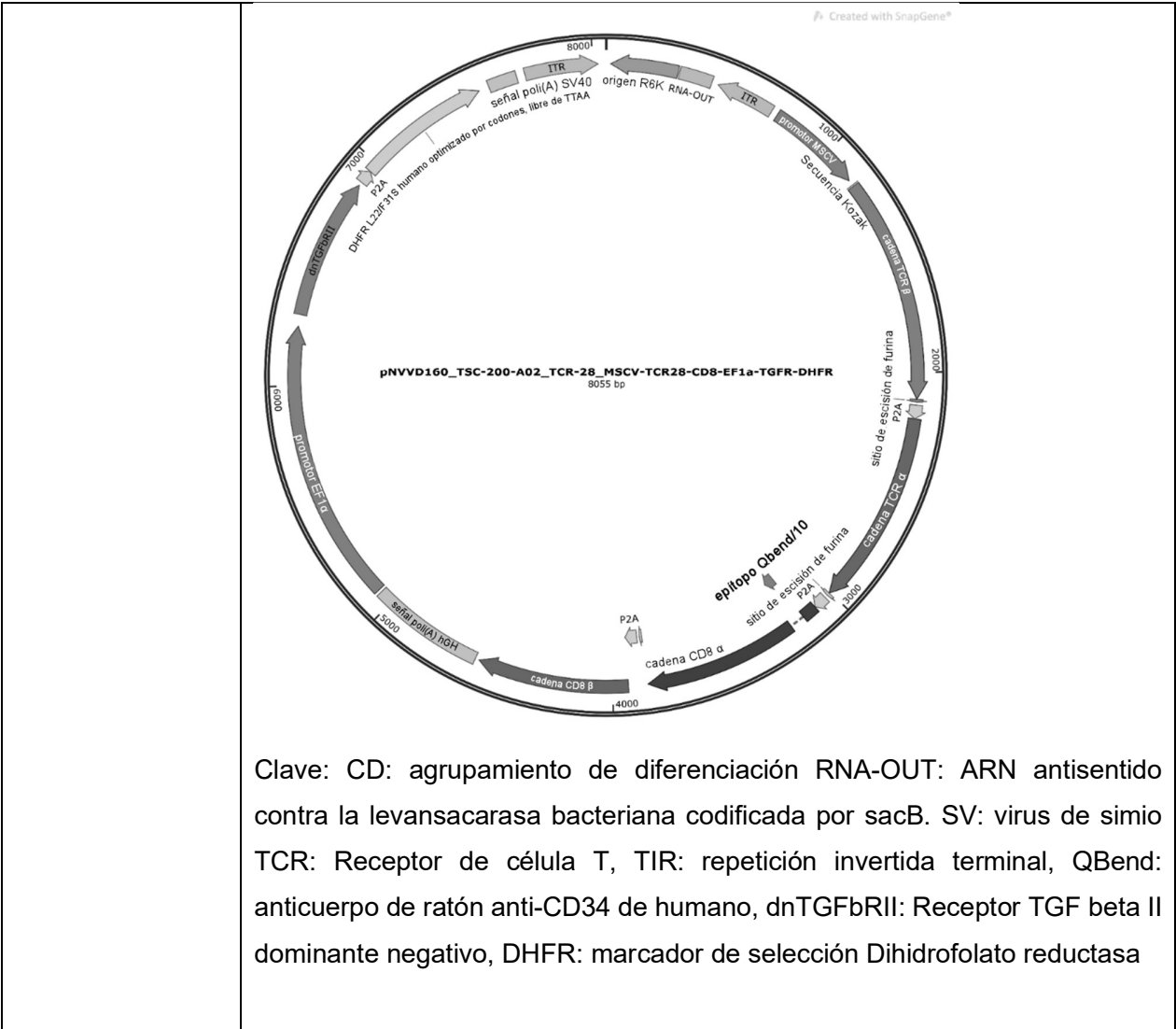
que codifica para el TCR puede ser intercambiada con cualquier secuencia de TCR de interés): pNVVD160_TSC- 200-A02_TCR- 28_MSCV- TCR28-CD8- EF1a-TGFR- DHFR	AGCTTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGAGCTT AGTACATTAGCCATGAGGGTTTAGTTCATTAAACATGAGAGCTTAGTAC ATTAACATGAGAGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGAT CTGTACAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAAATATTGAGTTCGCA CATCTTGTTGTCTGATTATTGATTTTTGGCGAAACCATTTGATCATATGA CAAGATGTGTATCTACCTTAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTAGGT ACCAATTACATTGCTTGCAATTAACCCCTTAACGGTTATAAGGATCTAGA TGAGATAGAAAGATTTGGTTTTCGGATTTGTGTTACATAAGATGCCTAAA ATAAAAATTGAGATTCAATTTTTTTTTAACTTTTTTTTAATTGGTGGTAAG AATATTCCCTCTACCTGTTTGAGAGTAATGAAATTGTAGTATGATTTTTTC AACAACTAAAAAACAACATAAATCTCACATAATACTTTATTTCAATCA CACAATTGAATACCAATAGGTTGACAGTACTTACCAGCCTGCAGGTGAA AGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCTTAAGTAACGCCATTTTG CAAGGCATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAG GTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGT GGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCC AGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTC CAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAA CCAATCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTTTGTGTGCTTCTGCTCCCTGAGC TCAATAAAAGAGCCACAACCCCTCACTTGGTGGGCCAGTCCTCTGAT AGACTGTGTCCCCTGGATACCCGTACGGTACCGCTAGCGCCACCATG GATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAGCCTGCTGAAGGCCGG ACTGACCGAGCCTGAAGTGACCCAGACTCCAAGCCATCAAGTGACTC AGATGGGGCAAGAAGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATCAGCAACCAC CTGTACTTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGGGCCAGAAAGTGGAATTC CTGGTGTCTTCTACAACAATGAGATCTCCGAGAAGTCCGAGATCTTC GACGACCAGTTCTCCGTGGAAAGACCCGACGGCAGCAACTTCACACT GAAGATCCGGTCTACCAAATTGAGGACTCCGCTATGTATTTTTGTGC AATCACAGGTCGCGTTTCATATGAGCAATATTCGGGGCCGGGCACCA GGCTCACGGTCACAGAAGATCTCAATAAAGTGTTCCCCCTGAGGTT GCGGTGTTTGAGCCGTCCAAAGCGGAGATTGCCACACACAGAAAGC GACTTTGGTTTGTGTTGGCGACAGGCTTTTTCCCTGACCACGTAGAGCT GTCTTGGTGGGTCAACGGCAAGGAGGTTACAGCGGTGTGTCAACGG ATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGACAGCCGGTAC TGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCC
---	--

	CCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGA ACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGT GTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCT CCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTG CTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCT GATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAA GGTCCGGGAGCGGTGCGACAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGC GACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT<u>ATGCTGCTGATCACCTCCATGCTG</u> <u>GTGCTGTGGATGCAGCTGAGCCAAGTGAACGGCCAGCAAGTGATGCA</u> <u>GATCCCTCAGTACCAGCACGTGCAAGAAGGCGAGGACTTCACCACCT</u> <u>ACTGCAACAGCAGCACCACACTGAGCAACATCCAGTGGTACAAGCAG</u> <u>CGGCCTGGCGGACACCCTGTGTTTCTGATCCAGCTGGTCAAGTCCGG</u> <u>CGAAGTGAAGAAGCAGAAGCGGCTGACCTTCCAGTTCGGCGAGGCC</u> <u>AAGAAGAACAGCAGCCTGCACATCACCGCCACACAGACCACAGATGT</u> <u>GGGCACCTACTTCTGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACACCGGTAAGC</u> <u>TCATCTTTGGGCAAGGGACAACCTTTACAAGTAAAACCAGACATCCAGA</u> <u>ACCCCGACCCCGCCGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGAC</u> <u>AAGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGAG</u> <u>TCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACATAACGGATAAGACCGTGCTGG</u> <u>ACATGCGGAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCC</u> <u>AACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCATCAT</u> <u>CCCCGAGGACACCTTCTTCCCAGCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGA</u> <u>AACTGGTGGAGAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTCAG</u> <u>AACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCTGAAAGTGGCCGG</u> <u>CTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGAGCAGC</u>AGGGCTAAGA GGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTG ACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCACCGCGCTG CTGCTGCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCGGCCAGAGCTTCCC ACCCAGGGCACATTCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTCTGGGAGGGCGGC GGATCGTCCCAGTTCAGAGTGTCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTG GGCGAGACCGTGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCAACCCGAC CTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTGGTGCTGCCGCAAGCC CTACGTTCCCTGCTTTACCTGAGCCAGAACAAAGCCCAAGGCGGCCGAGG GCCTGGACACCCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTC GTGCTTACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGGCTACTATTTCT
--	---

	GTTGCGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTAGCCACTTTGTGCCAGT GTTCTGCCTGCCAAGCCTACCACAACACCAGCTCCCCGTCCCCGAC TCCGGCGCCTACCATCGCGAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGG CTTGTGCGCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCCTCGAC TTTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTACCTGCGGG GTGCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAACC GCCGGCGGGTCTGTAAGTGCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGAC AAACCGTCGCTCTCGGCTCGCTACGTGCGCGCTAAGCGCAGCGGTTT CGGGGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGATGTGGAGGA GAATCCAGGGCCC<u>ATGCGCCCCAGGCTTTGGCTCCTTCTTGCTGCTCA</u> <u>GCTCACTGTCTTGTCATGGCAACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTA</u> <u>CATCAAGGTGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTTCATGCGAGGCCAA</u> <u>GATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTACGACAGCGCCAGGCC</u> <u>CCCTCCAGCGACAGCCACCACGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCT</u> <u>AAAGGCACCATCCATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTC</u> <u>TTCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAGCGTGAAGCCG</u> <u>GAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATGATCGTTGGCTCCCCGAGCTG</u> <u>ACCTTCGGCAAAGGCACCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCACC</u> <u>ACAGCCCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTGTGCCGA</u> <u>CTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGGCCCTCTGTGCTCCCCATCACC</u> <u>CTTGGA CTGCTGGTGGCGGGAGTCCTGGT GCTGCTCGTATCTCTGGGT</u> <u>GTGCGCATCCACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCCGCCCTGAGGTT</u> <u>TATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAATCGATGGAAGGGTGGCATCCCTG</u> TGACCCCTCCCCAGTGCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGT GCCCACCAGCCTTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACT AGGTGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCA AGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGG GAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCC GCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTG GGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGT AGAGACGGGGTTTCACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACCTCCTAAT CTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGG CGTGAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCTTCTGATTACTAGTGGCTCCGG TGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGT TGTGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGC
--	--

	GGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCC GAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTT CTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGT GGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCT TGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTC GGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCC CCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCG CCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGA TAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTT TCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTAT TTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGC GCACATGTTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATC GGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCT CGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGG TCGGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGC TGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCG GGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTC GCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGAT TAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTAGGTTGGGGGGAGGGG TTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTA GGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGA GTTTGGATCTTGTTTCAATCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTT TTCTTCCATTTAGGTGTCGTGAACTAGTCCAGTGTGGTGGAATTCTGC AGATATCACGGCTAGCGCCACCATGGGTGCGGGGCTGCTCAGGGGCC TGTGGCCGCTGCACATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACGATCC CACCGCACGTTCAGAAGTCGGTGAATAACGACATGATAGTCACTGACA ACAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAACCTGTGTAAATTTTGATGTGAG ATTTTCCACCTGTGACAACCAGAAATCCTGCATGAGCAACTGCAGCATC ACCTCCATCTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTATGGAGA AAGAATGACGAGAACATAACACTAGAGACAGTTTGCCATGACCCCAAG CTCCCCTACCATGACTTTATTCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCA TTATGAAGGAGAAGAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTCATGTGTTCTG TAGCTCTGATGAGTGCAATGACAACATCATCTTCTCAGAAGAATATAAC ACCAGCAATCCTGACTTGTTGCTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCA GCCTCCTGCCACCACTGGGAGTTGCCATATCTGTCATCATCATCTTCTA
--	--

	CTGCTACCGCGTGAACCGGCAGCAGAAGGCTAGTGGTTCAGGCGCAA CGAATTTCTCTTTGCTGAAGCAGGCTGGGGATGTCGAAGAAAATCCGG GTCCAATGGTGGGCTCGCTCAACTGCATCGTAGCAGTCTCCCAGAATA TGGGCATCGGGAAGAACGGTGATTTCCCGTGGCCCCCACTTCGCAACG AGAGCCGTTATTTCCAAAGAATGACTACAACCTCCTCCGTGGAGGGTAA GCAGAACCTGGTCATCATGGGGAAGAAGACCTGGTTCTCTATCCCTGA AAAAAACCGCCCCCTGAAGGGCCGCATCAACCTGGTGCTGAGCAGGG AACTCAAGGAGCCTCCTCAGGGCGCGCATTCTGAGCCGCTCATTGG ATGACGCTCTCAAACCTGACCGAACAGCCGGAGCTAGCCAACAAGGTGG ACATGGTGTGGATCGTCGGAGGCTCCTCCGTGTACAAGGAGGCCATGA ATCACCCCGGCCACTTGAAGCTGTTCTGTCACCCGGATCATGCAGGACT TCGAGTCGGACACGTTCTTTCCAGAGATTGACCTGGAGAAGTACAAGC TGCTGCCCCGAGTACCCGGGAGTTCTTAGTGATGTGCAGGAGGAGAAAG GCATCAAGTACAAATTTGAGGTGTACGAGAAGAACGACTAACGGTCCG TCCTGACCAATGCTGGAGTTCTTCGCCACCCCAACTTGTTTATTGCAG CTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAA GCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGT ATCTTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTCAGTCTCCTAGGTACGTCTTA TATCTATGAAAAAACATTCAAAGCACAACATCTAGAAGAACTTACCTTT TTTCACCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAAGTACAAA AAACCGCTAGTTTTCAAATTCACCTCAAGACTTTGAAAAAAAATTGAATC TGTCATGTCAAATAAAATCAGAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATG TTGTCAGGTCGAAAAATAAAATTGCAAATAGAAATTTTGTTCCTTTTTTAT TGGTTTTTATTGGTGGGAAAAATATTCCCTCTAACTGCAAAGGGTTAAT TATGTTAGAGGTAGAGTCGACAAGCTT Mapa del vector pNVVD160_TSC-200-A02_TCR-28_MSCV-TCR28-CD8- EF1a-TGFR-DHFR
--	---



* Para los vectores de la Tabla 2, el promotor MSCV se encuentra en negrita. La cadena beta está indicada usando texto en negrita y en *italica*. La cadena alfa está indicada usando texto en **negrita** y subrayado. La marca de enriquecimiento de CD34 (por ejemplo, marca Q) está indicada usando texto en *italica* y subrayado. CD8-alfa está en *italica*. CD8-beta está subrayado.

* En las Tablas 1 y 2 se encuentran incluidas las moléculas de ácido nucleico ARN (por ejemplo, timinas reemplazadas por uridinas), las moléculas de ácido nucleico que codifican para ortólogos de las proteínas codificadas, así como también las secuencias de ácido nucleico ADN o ARN que comprenden una secuencia de ácido nucleico que tiene por lo menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o más de identidad para toda su longitud con la secuencia de ácido nucleico de cualquier secuencia que se describe en la Tabla 1 o 2, o una parte de la misma. Dichas moléculas de ácido nucleico pueden

tener una función del ácido nucleico de longitud completa como se describe adicionalmente en la presente.

Tabla 3: Epitopes antigénicos

Tabla 3A: Epitopes de MAGEA1 presentados por el HLA de serotipo HLA-C*07

Epitopes peptídicos
VRFFFPSL (SEQ ID NO: 52)
FFFPSLREA (SEQ ID NO: 53)
ARVRFFFPSL (SEQ ID NO: 54)
VRFFFPSLR (SEQ ID NO: 55)
RVRFFFPSL (SEQ ID NO: 56)
FFPSLREA (SEQ ID NO: 57)
ARVRFFFPSLR (SEQ ID NO: 58)
SARVRFFF (SEQ ID NO: 59)
VRFFFPSLREA (SEQ ID NO: 60)
RFFFPSLREA (SEQ ID NO: 61)

Tabla 3B: Epitopes de MAGEC2 presentados por el HLA de serotipo HLA-B*07

Epitopes peptídicos
RAREFMEL (SEQ ID NO: 62)
RAREFMELL (SEQ ID NO: 63)
RAREFMELLF (SEQ ID NO: 64)
LKRAREFMEL (SEQ ID NO: 65)
VILKRAREF (SEQ ID NO: 66)
FPVILKRAR (SEQ ID NO: 67)
KRAREFMEL (SEQ ID NO: 68)
KRAREFMELL (SEQ ID NO: 69)
LKRAREFMELL (SEQ ID NO: 70)
RAREFMELLFG (SEQ ID NO: 71)

Tabla 3C: Epitopes de VPH16 E7 presentados por el HLA de serotipo HLA-A*02

Epitopes peptídicos
YMLDLQPET (SEQ ID NO: 72)
YMLDLQPETT (SEQ ID NO: 72a)

Tabla 3D: epitopes de MAGEA1 presentados por el HLA de serotipo HLA-A*02 (por ejemplo, HLA-A*02:01)

Epitopes peptídicos
KVLEYVIKV (SEQ ID NO: 83)
VLEYVIKV (SEQ ID NO: 83a)
KVLEYVIK (SEQ ID NO: 83b)

* En la Tabla 3, tal como en la Tabla 3A, Tabla 3B, Tabla 3C y Tabla 3D, se encuentran incluidos los epitopes peptídicos, así como también las moléculas polipeptídicas que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o más de identidad para toda su longitud con una secuencia de aminoácidos de cualquier secuencia que se describe en la Tabla 3, tal como en la Tabla 3A, Tabla 3B, Tabla 3C y Tabla 3D, o una parte de la misma. Dichos polipéptidos pueden tener una función del péptido o polipéptido de longitud completa como se describe adicionalmente en la presente.

Ejemplo 3: ejemplo representativo no limitante de terapia combinada

El presente Ejemplo provee composiciones y métodos útiles para la terapia con células T-TCR en multiplex, que incluye un TCR anti-MAGE-A1 y un TCR anti-PRAME. Sin limitarse a ninguna teoría científica particular, el presente Ejemplo además incluye que la terapia con células T-TCR en multiplex imita una respuesta oligoclonal natural de células T contra el cáncer. La terapia con células T-TCR en multiplex (por ejemplo, que incluye un TCR anti-MAGE-A1 y un TCR anti-PRAME) provee métodos y composiciones que abordan ciertos desafíos asociados con el tratamiento de tumores sólidos.

Se pueden usar diversos ensayos para confirmar la utilidad de una terapia con células T-TCR en multiplex (por ejemplo, una terapia con células T-TCR en multiplex que incluye un TCR anti-MAGE-A1 (tal como “TCR 1479”, que también se conoce como “MAGE-A1-1479,” “1479”, “TSC-204-A02”, y “TSC-204-A0201”) y un TCR anti-PRAME (tal como “TCR 366”, que también se conoce como “366” y “TSC-203-A02” (también conocido como “TSC-203-A0201”), y/o “TCR 358”, que también se conoce como “358”)). En un ejemplo representativo no limitante, un TCR anti-MAGE-A1, un TCR anti-PRAME, y una o más líneas celulares diana que expresan sus antígenos asociados se mutiplexan usando experimentos de cocultivo directo e indirecto para evaluar el sinergismo potencial del uso de más de un TCR para direccionarse contra los tumores, así como también para comprender los mecanismos biológicos detrás de dicho sinergismo. Este ensayo se puede usar para modelar la muerte celular mediada por células T en multiplex mediante una terapia con células T-

TCR en multiplex que incluye un TCR anti-MAGE-A1 y un TCR anti-PRAME, y la heterogeneidad, *in vitro*.

En un caso representativo, por ejemplo, se puede usar y/o probar el multiplexado de (i) un TCR anti-MAGE-A1 contra un epítipo de HLA-A*02 restringido al serotipo de MAGE-A1 (Tabla 5, por ejemplo, SEQ ID NO: 83) y (ii) un TCR anti-PRAME contra un epítipo de HLA-A*02 restringido al serotipo de PRAME (Tabla 7, por ejemplo, SEQ ID NO: 104), tal como mediante el uso de células modificadas por ingeniería que expresan dichos TCR. En algunas formas de realización, se transducen células pan-T y se seleccionan para expresar los TCR relevantes (anti-MAGE-A1 o anti-PRAME). Las células diana son una mezcla de dos líneas celulares, en donde cada una expresa solo uno de los dos antígenos. Las células U266B1 son HLA-A*02:01+ y MAGE-A1+. Las células Hs695T, A375, y NCI-H1563 son HLA-A*02:01+ y PRAME+. Ambas líneas celulares se modifican para expresar Incucyte® NucLight Red y se mezclan para imitar la heterogeneidad tumoral. Las células T modificadas o células T control de donante no modificadas (T-TCR control) se cocultivan con Incucyte® NucLight Las líneas celulares diana marcadas en rojo para las proporciones indicadas de célula efectora a célula diana (E:T), y su supervivencia se pueden cuantificar en un IncuCyte® como una lectura de la citotoxicidad de las células T.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia de la cadena alfa del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena alfa del TCR que se describen en la Tabla 4; y/o b) una secuencia de la cadena beta del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena alfa del TCR que se describen en la Tabla 4) una secuencia de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR

seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_α del TCR que se describen en la Tabla 4; y/o b) una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_β del TCR que se describen en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_α del TCR que se describen en la Tabla 4; y/o b) una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_β del TCR que se describen en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en): por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres, tal como CDR3 sola o en combinación con una CDR1 y CDR2) secuencia de la región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena alfa del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de CDR de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias CDR de la cadena alfa del TCR que se describen en la Tabla 4. Se cree que la CDR3 es la principal CDR responsable del reconocimiento del antígeno procesado y que las CDR1 y CDR2 interaccionan principalmente con el MHC, por lo tanto, en algunas formas de realización, se provee una proteína de unión que comprende una CDR3 sola de una cadena alfa del TCR y/o una CDR3 sola de una cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 4, en donde cada CDR3 tiene una homología de secuencia como se indica en este párrafo.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres, tal como CDR3 sola o en combinación con una CDR1 y CDR2) secuencia de la región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena beta del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de CDR de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias CDR de la cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 4. Tal como se describe precedentemente, se cree que la CDR3 es la principal CDR responsable del reconocimiento del antígeno procesado y que las CDR1 y CDR2 interaccionan principalmente con el MHC, por lo tanto, en algunas formas de realización, se provee una proteína de unión que comprende una CDR3 sola de una cadena alfa del TCR y/o una CDR3

sola de una cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 4, en donde cada CDR3 tiene una homología de secuencia como se indica en este párrafo.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres) región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena alfa del TCR que se describe en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres) región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena beta del TCR que se describe en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena alfa del TCR (C_α) con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de C_α del TCR que se describe en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena beta (C_β) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de C_β del TCR que se describe en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena alfa (C_α) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de C_α del TCR que se describen en la Tabla 4.

Un TCR anti-MAGE-A1 abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena beta (C_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de C_β del TCR que se describen en la Tabla 4.

Tabla 4: secuencias de TCR que reconocen un antígeno MAGEA1 presentado por el HLA de serotipo HLA-A*02

Secuencia de	Secuencia de ADN de cadena alfa
MAGEA1-278-1479	ATGGAAAAATGCTCGAGTGCGCCTTCATCGTGCTTTGGCTGCAGC
WT	TGGATGGCTGAGCGGAGAGGATCAAGTGACACAGTCTCCCGAGG
	CTCTGAGGCTGCAAGAGGGCGAAAGCAGTCCCTGAATTGCAGCT

Cadena alfa: TRAV20/TRAJ26/TR AC	ACACC<u>GTGTCTGGCCTGAGGGGC</u>CTGTTTTGGTACAGACAAGACC CTGGCAAGGGACCCGAGTTCCTGTTACACA<u>CTGTACTCTGCCGGCG</u> <u>AAGAAA</u>AAGAGAAAGAGCGCCTGAAAGCAACCCTGACCAAGAAAG AGAGCTTCCTGCACATCACAGCCCCTAAGCCAGAGGACAGCGCTAC TTACCTG<u>TGTGCCGTTTCATACGGCCAGAATTCGTTTTT</u>GGTCCC GGAACCAGATTGTCCGTGCTGCCCTatattccagaaccctgaccctgccgtgtacc agctgagagactctaaatccagtacaagtctgtctgcctattcaccgattttgattctcaacaaatgt gtcaciaaagtaaggattctgatgttatatcacagacaaaactgtgtagacatgaggtctatggact tcaagagcaacagtgtgtggcctggagcaacaaatctgactttgcatgtgcaaacgccttcaacaa cagcattattccagaagacaccttctccccagcccagaaagttcctgtgatgtcaagctggtcgaga aaagctttgaaacagatacgaacctaaactttcaaacctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcc tgaaagtggccgggttaattctgctcatgacgctgcggctgtgtgtccagc (SEQ ID NO: 73) Secuencia proteica de cadena alfa MEKMLECAFIVLWLQLGWLSGEDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSYT <u>VSGLRGL</u>FWYRQDPGKGPEFLFT<u>LYSAGEE</u>KEKERLKATLTKKESFLH ITAPKPEDSATYL<u>CAVSYGQNFV</u>FGPGRSLVLPYiqnppavyqlrdsksdk svclftdfdsqtnvsqskdsdvitdkvlmdmrsmdfksnsavawnsksdfacanafnnsiipedtff pspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrillkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 74)
Secuencia de MAGEA1-278-1479 WT Cadena beta: TRBV5-8/TRBJ1- 1/TRBC1	Secuencia de ADN de cadena beta ATGGGACCCAGGCTCCTCTTCTGGGCACTGCTTTGTCTCCTCGGAA CAGGCCCAGTGGAGGCTGGAGTCACACAAAGTCCCACACACCTGA TCAAACGAGAGGACAGCAAGCGACTCTGAGATGCTCTCCTATC<u>TC</u> <u>TGGGCACACCAGT</u>GTGTACTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCTGGG CCTCCAGTTCCTCCTTTGGT<u>TATGACGAGGGTGAAGAG</u>AGAAACAG AGGAAACTTCCCTCCTAGATTTTCAGGTCGCCAGTTCCTAATTATA GCTCTGAGCTGAATGTGAACGCCTTGGAGCTGGAGGACTCGGCCC TGTATCTCT<u>TGTGCTTCCTCACTTGGGCAATTGAACACAGAGGCATT</u> <u>CTTT</u>GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGaggacctgaacaaggtgtc ccacccgaggtcgtgtgttgagccatcagaagcagagatctccacacccaaaaggccacact gggtgtgcctggccacaggcttctccctgaccacgtggagctgagctgggtgggtgaatgggaagga gggtgcacagtggggtcagcacggaccgcagcccctcaaggagcagcccgccctcaatgactcc agatactgcctgagcagccgcctgagggctcggccaccttctggcagaacccccgaaccacttc cgctgtcaagtccagttctacgggctctcggagaatgacgagtgagaccaggatagggccaaacc

	cgtcacccagatcgtcagcgccgaggcctgggtagagcagactgtggctttacctcggtgtctac cagcaaggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctaggggaaggccaccctgtatgctgt gctggtcagcgcccttggtgatggccatggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 75) Secuencia proteica de cadena beta MGPRLFWALLCLLGTGPVEAGVTQSPTHLIKTRGQQATLRCSPISGH TSVYWYQQALGLGLQFLLWYDEGEERNRGNFPPRFSGRQFPNYSSEL NVNALELEDSALYLCASSLGQLNTEAFFGQGTRLTVVEdlnkvfppevavfe pseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsqvstpqplkeqpalndsryclssrlrvs atfwqnprnhfrcqvfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlstilyeil lgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 76)
Secuencia de MAGEA1-278-1479 MGTM con codones optimizados (también conocido como clon “MAGE-A1-1479”, “TCR 1479”, “1479”, “TSC-204-A02”, y “TSC-204-A0201”) Nota: este clon se usó en las Figuras 7-9 como TCR MAGEA1-A02 en multiplex con el TCR MAGEA1-C07 Cadena alfa: TRAC modificado TRAV20/TRAJ26/MG TM	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGAAAAAATGCTCGAGTGCGCCTTCATCGTGCTTTGGCTGCAGC TCGGATGGCTGAGCGGAGAGGATCAAGTGACACAGTCTCCCGAGG CTCTGAGGCTGCAAGAGGGCGAAAGCAGCTCCCTGAATTGCAGCT ACACC<u>GTGTCTGGCCTGAGGGGC</u>CTGTTTTGGTACAGACAAGACC CTGGCAAGGGACCCGAGTTCTCTGTTTCACTGTA<u>CTGCTGCGGCG</u> <u>AAGAA</u>AAAGAGAAAGAGCGCCTGAAAGCAACCCTGACCAAGAAAG AGAGCTTCCTGCACATCACAGCCCCTAAGCCAGAGGACAGCGCTAC TTACCTGT<u>TGTGCCGTTTCATACGGCCAGAATTCGTTTT</u>GGTCCC GGAACCAGATTGTCCGTGCTGCCCTacatccagaacccccgacccccgcgtgtac cagctgagggactccaagtccagcgacaagagcggtgtgtctgtttacggacttcgacagccagacc aacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgctggacatgcgga gcatggactcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgacttcgctgcgccaac gccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttcccagcagcgacgtgccttgcgacgtg aaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaacttcagaacctgctggtgatcgctgc tgcggattctgctgctgaaagtggccggtcctcaatctgctgatgaccctgaggctgtggagc (SEQ ID NO: 77) Secuencia proteica de cadena alfa MEKMLECAFIVLWLQLGWLSGEDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSYT <u>VSGLRGL</u>FWYRQDPGKGPEFLFTLYSAGEEKEKERLKATLTKKESFLH ITAPKPEDSATYLC<u>AVSYGQNFVF</u>GPGTRLSVLPYiqnppavyqlrdsksdk

	svclftdfdsqtnvsqskdsdvitdktvldmrsmdfksnsavawnsksdfacanafnnsiipedtff pssdvpcdvklveksfetdtnlnfnqnlvivrillkvagfnllmtrlws (SEQ ID NO: 78)
Secuencia de MAGEA1-278-1479 MGTM con codones optimizados (también conocido como clon “MAGE- A1-1479”, “TCR 1479”, “1479”, “TSC-204-A02”, y “TSC-204-A0201”) Nota: este clon se usó en las Figuras 7-9 como TCR MAGEA1- A02 en multiplex con el TCR MAGEA1-C07 Cadena beta: TRBV5-8/TRBJ1- 1/MGTM TRBC modificado	Secuencia de ADN de cadena beta ATGGGACCCAGGCTCCTCTTCTGGGCACTGCTTTGTCTCCTCGGAA CAGGCCCAGTGGAGGCTGGAGTCACACAAAGTCCCACACACCTGA TCAAAACGAGAGGACAGCAAGCGACTCTGAGATGCTCTCCTATC <u>TC</u> <u>TGGGCACACCAGT</u> GTGTACTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCTGGG CCTCCAGTTCCTCCTTTGGT <u>TATGACGAGGGTGAAGAG</u> AGAAACAG AGGAACTTCCCTCCTAGATTTTCAGGTCGCCAGTTCCTAATTATA GCTCTGAGCTGAATGTGAACGCCTTGGAGCTGGAGGACTCGGCCC TGTATCTCT <u>TGTGCTTCCTCACTTGGGCAATTGAACACAGAGGCATT</u> <u>CTTT</u> GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGaagatctgaacaaggtgttcc ctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgccacacacaaaaagccaccctc gtgtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggt gcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcctgcctgaacgacagccggt actgcctgagctccagactgagagtgccgccacctctggcagaacccccggaaccacttcagat gccaggtgcagtttacggcctgagcgagaacgacgagtggaaccaggacagagccaagccgt gacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctctatc accagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgtgggcaaggccaccctgtacgcc gtgctggtgtctgctgtgtgatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcggcagagcca aaaggtccgggagcggt (SEQ ID NO: 79)
	Secuencia proteica de cadena beta MGPRLLFWALLCLLGTGPVEAGVTQSPTHLIKTRGQQATLRCSP <u>ISGH</u> <u>TS</u> VYWYQQALGLGLQLQFLLW <u>YDEGE</u> ERNRGNFPPRFSGRQFPNYSSEL NVNALELEDSALYL <u>CASSLGQLNTEAFF</u> GQGTRLTVVEdlnkvfppevavfe pskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlvs atfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeil lgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsggrakrsgsg (SEQ ID NO: 80)
Secuencia completa de ADN del ORF de las cadenas beta y alfa (la región	ATGGGACCCAGGCTCCTCTTCTGGGCACTGCTTTGTCTCCTCGGAA CAGGCCCAGTGGAGGCTGGAGTCACACAAAGTCCCACACACCTGA TCAAAACGAGAGGACAGCAAGCGACTCTGAGATGCTCTCCTATC <u>TC</u> <u>TGGGCACACCAGT</u> GTGTACTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCTGGG

subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” codifica para una secuencia que permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete)	CCTCCAGTTCCTCCTTTGGTATGACGAGGGTGAAGAGAGAAACAG AGGAAACTTCCCTCCTAGATTTTCAGGTCGCCAGTTCCCTAATTATA GCTCTGAGCTGAATGTGAACGCCTTGGAGCTGGAGGACTCGGCCC TGTATCTCTGTGCTTCCTCACTTGGGCAATTGAACACAGAGGCATT CTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGaagatctgaacaaggtgttc ctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgccacacacaaaaagccaccctc gtgtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggt gcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcctgcctgaacgacagccggt actgcctgagctccagactgagagtgtccgccacctctggcagaacccccggaaccacttcagat gccaggtgcagtttacggcctgagcgagaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgt gacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattggcgcatcaccagcgctctatc accagggcgtgtgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgtgggcaaggccaccctgtacgcc gtgtggtgtctgtctgtgtgtgatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcggcagagcca aaaggtccgggagcgggtGCGACAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGC GACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTATGGAAAAATGCTCGAGTGCG CCTTCATCGTGCTTTGGCTGCAGCTCGGATGGCTGAGCGGAGAGG ATCAAGTGACACAGTCTCCCGAGGCTCTGAGGCTGCAAGAGGGCG AAAGCAGCTCCCTGAATTGCAGCTACACCGTGCTCTGGCCTGAGGG GCCTGTTTTTGGTACAGACAAGACCCTGGCAAGGGACCCGAGTTCTT GTTACACACTGTACTCTGCCGGCGAAGAAAGAGAGAAAGAGCGCCT GAAAGCAACCCTGACCAAGAAAGAGAGCTTCCTGCACATCACAGCC CCTAAGCCAGAGGACAGCGCTACTTACCTGTGTGCCGTTTCATACG GCCAGAATTTCTGTTTTTGGTCCCGGAACCAGATTGTCCGTGCTGCC CTacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagag cgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtcta cataacggataagaccgtgtgtgacatgcggagcatggactcaagagcaacagcgccgtggcct gggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacac cttctccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactgggtggagaagtccttcgagacagacac caatctgaactttcagaacctgtgtgtgatcggtgtgtgcggattctgtgtgaaagtggccggttcaat ctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 81)
Secuencia proteica completa del ORF de las cadenas beta y alfa (la región	MGPRLFWALLCLLGTGPVEAGVTQSPHLIKTRGQQATLRCSPISGH TSVYWYQQALGLGLQFLLWYDEGEERNRGNFPFRFSGRQFPNYSSEL NVNALELEDSALYLCASSLGQLNTEAFFGQGTRLTVVEInkfvppevavfe pskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvs

subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete)	atfwqnprnhfrcqvfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqqvlsatilyeil lgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsg <u>akrsgsg</u> <u>ATNFSLLKQAGDVEENPGPMEK</u> MLECAFIVLWLQLGWLSGEDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSY <u>T</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>G</u> <u>L</u> <u>F</u> <u>W</u> <u>Y</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>D</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>F</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>Y</u> <u>S</u> <u>A</u> <u>G</u> <u>E</u> <u>E</u> <u>K</u> <u>E</u> <u>K</u> <u>E</u> <u>R</u> <u>L</u> <u>K</u> <u>A</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>E</u> <u>S</u> <u>F</u> <u>L</u> <u>H</u> <u>I</u> <u>T</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>K</u> PEDSATYL <u>CAVSYGQNFVF</u> GPGTRLVLPYiqnpdpavyqlrdsksdksvcfltd fdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvp cdvklveksfetdtnlnfnqnlvivlrlillkvagfnllmtrlws (SEQ ID NO: 82)
--	--

* La Tabla 4 provee, en parte, secuencias de TCR representativos agrupadas de acuerdo con la presentación en el serotipo de MHC y subagrupadas de acuerdo con los diferentes péptidos presentados por el serotipo de MHC y unidas por los TCR subagrupados. Los TCR individuales, tales como los representativos ejemplificados en las tablas, se describen y reivindican, así como también el género de las proteínas de unión que se unen a una secuencia de epitope peptídico descrita en la presente ya sea solos o en un complejo con una MHC, tales como aquellos agrupados de las tablas que se proveen en la presente. Además, se proveen los genes TRAV, TRAJ y TRAC para cada cadena alfa del TCR descrito en la presente, y los genes TRBV, TRBJ y TRBC para cada cadena beta del TCR descrito en la presente. Las secuencias de cada TCR descrito en la presente se proveen como pares de cadenas alfa y beta asociadas para cada TCR nombrado. Las secuencias de TCR descritas en la presente están anotadas. Las secuencias de los dominios variables figuran en mayúsculas. Las secuencias de los dominios constantes figuran en minúscula. Las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 están anotadas usando texto en negritas y subrayado. Las CDR1, CDR2 y CDR3 se muestran en el orden estándar de aparición de izquierda (N-terminal) a derecha (C-terminal). Los genes TRAV, TRAJ y TRAC para cada cadena alfa del TCR descrito en la presente, y los genes TRBV, TRBJ y TRBC para cada cadena beta del TCR descrito en la presente, están anotados de acuerdo con la nomenclatura IMTG bien conocida que se describe en la presente. De igual manera, las CDR1 y CDR2 de TRAV y TRBV son bien conocidas debido a que se basan en secuencias bien conocidas y anotadas de TRAV y TRBV (por ejemplo, anotadas en bases de datos como IMGT disponible en imt.org y IEDB disponible en iedb.org).

* Para ciertos vectores representados, el promotor de MSCV figura en negritas. La cadena beta está anotada usando texto en negritas y en itálicas. La cadena alfa está anotada usando texto en negritas y subrayado. La marca de enriquecimiento de CD34 (Q tag) está anotada usando texto en negritas y subrayado. La cadena alfa de CD8 figura en itálica. La cadena beta de CD8 figura subrayada.

* La Tabla 4 incluye secuencias polipeptídicas, así como también moléculas de polipéptido que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o más de identidad para toda su longitud con una secuencia de aminoácidos de cualquier secuencia allí provista, o una parte de la misma. Dichos polipéptidos pueden tener una función del péptido o polipéptido de longitud completa como se describe adicionalmente en la presente.

* La Tabla 4 incluye moléculas de ácido nucleico de ARN (por ejemplo, timinas reemplazadas por uridinas), moléculas de ácido nucleico que codifican para ortólogos de las proteínas codificadas, así como también secuencias de ácido nucleico de ADN o ARN que comprenden una secuencia de ácido nucleico que tiene por lo menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o más de identidad para toda su longitud con la secuencia de ácido nucleico de cualquier secuencia allí provista, o una parte de la misma. Dichas moléculas de ácido nucleico pueden tener una función del ácido nucleico de longitud completa como se describe adicionalmente en la presente.

Tabla 5: epitopes de MAGEA1 presentados por el HLA de serotipo HLA-A*02 (por ejemplo, HLA-A*02:01)

Epitopes peptídicos
KVLEYVIKV (SEQ ID NO: 83)
VLEYVIKV (SEQ ID NO: 83a)
KVLEYVIK (SEQ ID NO: 83b)

Tal como se describió precedentemente, cualquier combinación de los TCR descritos en la presente está contemplada para su uso.

Por ejemplo, un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia de la cadena alfa del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias alfa del TCR que se describen en la Tabla 6; y/o b) una secuencia de la cadena beta del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena alfa del TCR que se describen en la Tabla 6) una secuencia de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de la cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_α del TCR que se describen en la Tabla 6; y/o b) una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_β del TCR que se describen en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en): a) una secuencia del dominio variable de la cadena alfa (V_α) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_α del TCR que se describen en la Tabla 6; y/o b) una secuencia del dominio variable de la cadena beta (V_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias del dominio V_β del TCR que se describen en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en): por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres, tal como CDR3 sola o en combinación con una CDR1 y CDR2) secuencia de la región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena alfa del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de CDR de la cadena alfa del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de CDR de la cadena alfa del TCR que se describen en la Tabla 6. Se cree que la CDR3 es la principal CDR responsable del reconocimiento del antígeno procesado y que las CDR1 y CDR2 interaccionan principalmente con el MHC, por lo tanto, en algunas formas de realización, se provee una proteína de unión que comprende una CDR3 sola de una cadena alfa del TCR y/o una CDR3 sola de una cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 6, en donde cada CDR3 tiene una homología de secuencia como se indica en este párrafo.

Un TCR anti-PRAME abarcados por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres, tal como CDR3 sola o en combinación con una CDR1 y CDR2) secuencia de la región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena beta del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de CDR de la cadena beta del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de CDR de la cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 6. Tal como se describe precedentemente, se cree que la CDR3 es la principal CDR responsable del reconocimiento del antígeno procesado y que las CDR1 y CDR2 interaccionan principalmente con el MHC, por lo tanto, en algunas formas de realización, se provee una proteína de unión que comprende una CDR3 sola de una cadena alfa del TCR y/o una CDR3 sola de una cadena beta del TCR que se describen en la Tabla 6, en donde cada CDR3 tiene una homología de secuencia como se indica en este párrafo.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres) región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena alfa del TCR que se describe en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) por lo menos una (por ejemplo, una, dos o tres) región determinante de complementariedad (CDR) de la cadena beta del TCR que se describe en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena alfa (C_α) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia C_α del TCR que se describe en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena beta (C_β) del TCR con por lo menos aproximadamente 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más de identidad con una secuencia de C_β del TCR que se describe en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena alfa (C_α) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de C_α del TCR que se describe en la Tabla 6.

Un TCR anti-PRAME abarcado por la presente invención puede ser un TCR que incluye (por ejemplo, que comprende, que consiste en, o que consiste en) una secuencia de la región constante de la cadena beta (C_β) del TCR seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de C_β del TCR que se describe en la Tabla 6.

Tabla 6: secuencias de TCR que reconocen un antígeno de PRAME presentado por el HLA de serotipo HLA-A*02

Secuencia de PRAME-425-366 WT Cadena alfa: TRAV38- 2DV8/TRAJ50/TRAC	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGCCTGTCCTGGCTTCCTGTGGGCCCTTGTGATCAGCAC TTGCCTGGAATTCAGCATGGCTCAGACAGTCACCCAGTCTC AGCCCGAAATGAGCGTCCAAGAGGCTGAAACCGTGACTCT GTCTTGTACCTACGAC<u>ACCTCCGAGAGCGATTACTAC</u>CTCT TTTGGTATAAGCAACCGCCGTCCAGGCAAATGATCCTCGTG ATCCGGG<u>CAAGAAGCTTACAAACAGCAGAAT</u>GCTACCGAAA ACCGGTTCTCCGTCAATTTTCAGAAAGCCGCTAAGAGCTTTA GCCTGAAAATCTCCGACTCTCAGCTCGGCGACGCTGCTATG TATTTCT<u>TGTGCCTACCGCAAACTTCTTACGATAAAGTCAT</u> <u>TTTT</u>GGGCCAGGGACAAGCTTATCAGTCATTCCAAatattccaga accctgaccctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtgacaagtctgtctgcc tattcaccgattttgattctcaaaacaaatgtgtcacaaagtaaggattctgtatgtatcac agacaaaactgtgctagacatgaggtctatggacttcaagagcaacagtgtgtggcct ggagcaacaaatctgactttgcatgtgcaaacgccttcaacaacagcattattccagaa gacaccttctccccagcccagaaagttcctgtgatgtcaagctggtcgagaaaagcttg aaacagatacgaacctaaacttcaaaacctgtcagtgattgggtccgaatcctcctcct gaaagtggccgggttaatctgctcatgacgctgcggctgtgtccagc (SEQ ID NO: 84) Secuencia proteica de cadena alfa MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTL CTYD<u>TSESDYY</u>LFWYKQPPSRQMILVIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRF SVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYF<u>CAYRKTSYDKVIF</u>GPG TSLSVIPNIqnpdpavyqlrdsksdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdkvl dmrsmdfksnsavawnsksdfacanafnnsiipedtffpsesscdvklveksfetdnl nfqnlsvigfrilllkvagfnllmtrlwss (SEQ ID NO: 85)
--	--

Secuencia de PRAME-425-366 WT Cadena beta: TRBV13/TRBJ2-1/TRBC1	Secuencia de ADN de cadena beta ATGCTGAGCCCCGACCTGCCTGACAGCGCTTGAATACCA GACTCCTGTGCAGAGTGATGCTGTGCCTGCTTGGAGCTGG AAGTGTGGCTGCTGGTGTTCATTAGTCCCCAAGGCACCTGA TCAAAGAGAAGAGAGAGACAGCCACTCTGAAGTGCTACCCC ATTCCTAGACACGACACGGTCTATTGGTATCAGCAAGGACC TGGACAGGACCCTCAGTTCCTGATCAGCTTTCTACGAGAAGA TGCAGAGCGACAAGGGCAGCATCCCCGACAGATTTTCTGC CCAGCAGTTCAGCGACTACCACAGCGAGCTGAACATGAGC AGCCTGGAAGTGGGCGATAGCGCCCTGTACTTCTTGTGCCTC TTCTTTTCGCACGCCTGGAAGGTCGCGATAATGAACAATTTT TTGGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGaggacctgaacaag gtgttcccacccgaggtcgctgtgtttgagccatcagaagcagagatctccacaccca aaaggccacactgggtgtgcctggccacaggcttctccctgaccacgtggagctgagct gggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtgggtgcagcacggacccgcagcccctc aaggagcagcccgcctcaatgactccagatactgcctgagcagccgcctgagggtct cggccaccttctggcagaacccccgaaccactccgctgtcaagtccagttctacggg ctctcggagaatgacgagtgagccaggatagggccaaacccgtcaccagatcgctc agcgccgaggcctggggtagagcagactgtggctttacctcggtgtcctaccagcaagg ggctctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctaggggaagggccacctgtatgtgtg ctggtcagcgccctgtgttgatggccatggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 86) Secuencia proteica de cadena beta MLSPDLPDSAWNTRLLCRVMLCLLGAGSVAAGVIQSPRHLIKE KRETATLKCYPIPRHDTVYWYQQGPGQDPQFLISFYEKMQSD KGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYFCASSFARLE GRDNEQFFGPGLRLTVLEdlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgff pdhvelswwwngkevhsgvstpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnpnrhfr qvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlstilyeillgkatl yavlvlsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 87)
PRAME-425-366 MGTM con codones optimizados secuencia (también	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGCCTGTCCTGGCTTCCTGTGGGCCCTTGTGATCAGCAC TTGCCTGGAATTCAGCATGGCTCAGACAGTCACCCAGTCTC

conocido como clon “TCR 366”, “366”, “TSC-203-A02”, y “TSC-203-A0201”) Nota: este clon se usó en la Figura 6 como TCR anti-PRAME en multiplex con el TCR anti-MAGEA1. Las células T se transdujeron mediante lentivirus con un TCR expresado a partir de un vector que comprende MSCV-TCRalfa-TCRbeta-CD8alfa-CD8Beta (región constante de MGTM en TCR y marca de CD34 fusionada a CD8).	AGCCCGAAATGAGCGTCCAAGAGGCTGAAACCGTGACTCTGTCTTGTACCTACGAC<u>ACCTCCGAGAGCGATTACTACCTCT</u>TTTGGTATAAGCAACCGCCGTCCAGGCAAATGATCCTCGTGATCCGGG<u>CAAGAAGCTTACAAACAGCAGAAT</u>GCTACCGAAAACCGGTTCTCCGTCAATTTTTCAGAAAGCCGCTAAGAGCTTTAGCCTGAAAATCTCCGACTCTCAGCTCGGCGACGCTGCTATGTATTTCT<u>TGTGCCTACCGCAAACCTTCTTACGATAAAGTCAT</u><u>TTTT</u>GGGCCAGGGACAAGCTTATCAGTCATTCCAAacatccagaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtgcaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgtgacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgacttcgctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttctccccagcagcgacgtgcctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggccggttcaatctgctgatgacctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 88)
Cadena alfa: TRAV38- 2DV8/TRAJ50/MGTM TRAC modificado	Secuencia proteica de cadena alfa MACPGFLWALVISTCLEFSMAQVTVTQSQPEMSVQEAETVTLSC TYD<u>TSESDYY</u>LFWYKQPPSRQMILVIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQLGDAAMYF<u>CAYRKTSYDKVIF</u>GPGTSLSVIPNIqnpdpavyqlrdsksdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvitdkvl dm rsmdfksnsavawnsksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnl fqnllvivlrilllkvagfnllmtlr lws (SEQ ID NO: 89)
PRAME-425-366 MGTM con codones optimizados secuencia (también conocido como clon “TCR 366”, “366”, “TSC-203-A02”, y “TSC-203-A0201”) Nota: este clon se usó en la Figura 6 como TCR anti-PRAME en multiplex con el TCR anti-MAGEA1. Las	Secuencia de ADN de cadena beta ATGCTGAGCCCCGACCTGCCTGACAGCGCTTGAATACCA GACTCCTGTGCAGAGTGATGCTGTGCCTGCTTGGAGCTGG AAGTGTGGCTGCTGGTGTCAATTCAGTCCCCAAGGCACCTGA TCAAAGAGAAGAGAGAGACAGCCACTCTGAAGTGCTACCCC ATT<u>CCTAGACACGACACG</u>GTCTATTGGTATCAGCAAGGACC TGGACAGGACCCTCAGTTCCTGATCAGCT<u>TTCTACGAGAAGA</u><u>TGCAG</u>AGCGACAAGGGCAGCATCCCCGACAGATTTTCTGC CCAGCAGTTCAGCGACTACCACAGCGAGCTGAACATGAGC AGCCTGGAAGTGGGCGATAGCGCCCTGTACTTCT<u>TGTGCCTC</u><u>TTCTTTTCGCACGCCTGGAAGGTCGCGATAATGAACAATTTT</u>

células T se transdujeron mediante lentivirus con el TCR expresado a partir de un vector que comprende MSCV-TCRalfa-TCRbeta-CD8alfa-CD8Beta (región constante de MGMT en TCR y marca de CD34 fusionada a CD8). Cadena beta: TRBV13/TRBJ2-1/MGMT TRBC modificado	<u>TT</u>GGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGaagatctgaacaag gtgttcctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgccacacaca aaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaactgtcttg tgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaag aacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgc caccttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagtttacggcctga gcgagaacgacgagtggaaccaggacagagccaagcccgtagacaaaatcgtgtct gccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcaccagggc gtgtgtagcgcacaaatcgtacgaaatcctgtgggaaggccaccctgtacgccgt gctggtgtctgtctgtgtgtatggccatgtgtaagcggaaggactttggcagcggcag agccaaaagggtccgggagcggt (SEQ ID NO: 90)
	Secuencia proteica de cadena beta MLSPDLPSAWNTRLLCRVMLCLLGAGSVAAGVIQSPRHLIKE KRETATLKCYPI<u>PRHDT</u>VYWYQQGPGQDPQFLIS<u>FYEKMQSD</u> KGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYF<u>CASSFARLE</u> <u>GRDNEQFF</u>GPGTRLTVLEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgff pdhvelswwvngkevhsqvstpqplkeqpalndsryclssrlvsatfwqnpnrhfr qvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqqvlsatilyeillgkatl yavlvslvlmamvkrkdfgsgkrksgsg (SEQ ID NO: 91)
Secuencia completa de ADN del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” codifica para una secuencia que permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete)	ATGCTGAGCCCCGACCTGCCTGACAGCGCTTGAATACCA GACTCCTGTGCAGAGTGATGCTGTGCCTGCTTGGAGCTGG AAGTGTGGCTGCTGGTGTTCATTAGTCCCCAAGGCACCTGA TCAAAGAGAAGAGAGAGACAGCCACTCTGAAGTGCTACCCC ATT<u>CCTAGACACGACACG</u>GTCTATTGGTATCAGCAAGGACC TGGACAGGACCCTCAGTTCCTGATCAGCT<u>TTCTACGAGAAGA</u> <u>TGCAG</u>AGCGACAAGGGCAGCATCCCCGACAGATTTTCTGC CCAGCAGTTCAGCGACTACCACAGCGAGCTGAACATGAGC AGCCTGGAAGTGGGCGATAGCGCCCTGTACTTCT<u>TGTGCCTC</u> <u>TTCTTTTCGCACGCCTGGAAGGTGCGGATAATGAACAATTTT</u> <u>TT</u>GGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGaagatctgaacaag gtgttcctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgccacacaca aaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaactgtcttg tgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaag

	aacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgc caccttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagtttacggcctga gcgagaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtagacaaaatcggtgtct gccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctctatcaccagggc gtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgt gctggtgtctgtctggtgtgtatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcggcag <u>agccaaaagggtccgggagcgggGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAAC</u> <u>AAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTATGGCCTG</u> TCCTGGCTTCCTGTGGGCCCTTGTGATCAGCACTTGCCTGG AATTCAGCATGGCTCAGACAGTCACCCAGTCTCAGCCCGAA ATGAGCGTCCAAGAGGCTGAAACCGTGACTCTGTCTTGTAC CTACGAC<u>ACCTCCGAGAGCGATTACTAC</u>CTCTTTTGGTATA AGCAACCGCCGTCCAGGCAAATGATCCTCGTGATCCGG<u>CA</u> <u>AGAAGCTTACAAACAGCAGAAT</u>GCTACCGAAAACCGGTTCT TCCGTCAATTTTCAGAAAGCCGCTAAGAGCTTTAGCCTGAAA ATCTCCGACTCTCAGCTCGGCGACGCTGCTATGTATTTCTG <u>TGCCTACCGCAAACTTCTTACGATAAAGTCATTTTT</u>GGGC CAGGGACAAGCTTATCAGTCATTCCAAacatccagaacccgacccc gccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgttacgga cttcgacagccagaccaacgtgagtc aaagcaaggacagcgacgtctacataacgga taagaccgtgtggacatgcggagcatggactcaagagcaacagcgccgtggcctg gtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgcctcaacaacagcatcatccccgag gacaccttctccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtcctt cgagacagacaccaatctgaacttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctg ctgaaagtggccggctcaatctgctgatgacctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 92)
Secuencia proteica completa del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete)	MLSPDLPDSA WNT RLLCRV MLCLLGAGSVAAGVIQSPRHLIKE KRETATLKCYP I <u>PRHDT</u> VYWYQQGPGQDPQFLIS <u>FYEKMQSD</u> KGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYF <u>CASSFARLE</u> <u>GRDNEQFF</u> GPGTRLTVLEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgff pdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlvsatfwqnpnrhfr qvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqqvlsatilyeillgkatl yavlvsalvlmamvkrkdfgsg <u>akrsgsg</u> <u>ATNFSLLKQAGDVEENPGPM</u> ACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTLST

	YD<u>TSESDYYL</u>FWYKQPPSRQMILVIR<u>QEAYKQQN</u>NATENRFSV NFQKAAKSFSLKISDSQLGDAAMYF<u>CAYRKTSYDKVIF</u>GPGTGS LSVIPNiqnpdpavyqlrdsksdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyyitdktvldmrs mdfksnsavawsnkdsdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfq llvivlrillkvagfnllmtrlwss (SEQ ID NO: 93)
Secuencia de PRAME-425-358 WT Cadena alfa: TRAV30/TRAJ20/TRAC	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGAAACCCTGCTGAAGGTGCTGTCTGGCACCCCTGCTGTG GCAGCTGACATGGGTCCGATCTCAGCAGCCTGTGCAGTCT CCTCAGGCCGTGATTCTGAGAGAAGGCGAGGACGCCGTGA TCAACTGCAGCAGCTCT<u>AAGGCCCTGTACAGC</u>GTGCACTG GTACAGGCAGAAACACGGCGAGGCCCCAGTGTCTTCTGATG ATT<u>CTGCTGAAAGGCGGCGAGCAGA</u>AAGGGCCACGATAAGA TCTCCGCCAGCTTCAACGAGAAGAAGCAGCAGTCCAGCCT GTACCTGACAGCCAGCCAGCTGAGCTACAGCGGCACCTATT TCT<u>TGTGGCACAGAAGGTACTGGTGACTACAAGCTCTCTTTT</u> GGAGCCGGAACACAGTAACTGTAAGAGCAAatatccagaaccct gaccctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtgaacgtctgtctgcctattca ccgattttgattctcaaaacaaatgtgtcacaagtaaggattctgatgtgtatatcacagac aaaactgtgctagacatgaggcttatggacttcaagagcaacagtgtgtggcctggag caacaaatctgactttgcatgtgcaaacgcctcaacaacagcattattccagaagacac cttctccccagccagaaagttcctgtgatgtcaagctggctgcagaaaagctttgaaaca gatacgaacctaaactttcaaaacctgtcagtgattgggtccgaatcctcctctgaaagt ggccgggttaatatctgctcatgacgctgcggctgtgtgtccagc (SEQ ID NO: 94) Secuencia proteica de cadena alfa METLLKVLSGTLLWQLTWVRSQQPVQSPQAVILREGEDAVINC SSS<u>KALYS</u>VHWYRQKHGEAPVFLM<u>LLKGGEQ</u>KGHDKISASF NEKKQQSSLYLTASQLSYSGTYF<u>CGTEGTGDYKLSF</u>GAGTTV TVRANiqnpdpavyqlrdsksdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyyitdktvldmrs mdfksnsavawsnkdsdfacanafnnsiipedtffpsscdvklveksfetdtnlnfq lsvigfrillkvagfnllmtrlwss (SEQ ID NO: 95)
	Secuencia de ADN de cadena beta

Secuencia de PRAME-425-358 WT Cadena beta: TRBV27/TRBJ2-7/TRBC1	ATGGGACCTCAGCTGCTGGGATATGTGGTGCTGTGTCTGCTCGGAGCTGGACCCCTGGAAGCTCAAGTGACACAGAACCCAGATACCTGATCACCGTGACCGGCAAAAAGCTGACCGTGACCTGTAGCCAGAAC<u>ATGAACCACGAGTAC</u>ATGAGCTGGTATCGGCAAGACCCTGGCCTGGGGCTGAGACAGATCTACTATA<u>AGCATGAACGTGGAAGTG</u>ACCGACAAAGGCGACGTGCCCGAGGGCTATAAGGTGTCCCGGAAAGAGAAGCGGAACCTTTCCACTGATCCTGGAATCCCCATCTCCTAACCAGACCAGCCTGTATTTT<u>TGCGCTAGTTCTGCCGGGACCGGGGGGCATGAGCAATACTTC</u>GGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGaggacctgaacaaggtgtcccacccgaggtcgctgtgttgagccatcagaagcagagatctccacacccaaaaggccacactggtgtgctggccacaggcttctccctgaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtggggtcagcacggaccgcagccctcaaggagcagcccgccctcaatgactccagatactgcctgagcagccgctgagggtctcgccaccttctggcagaacccccgcaaccacttccgctgtcaagtccagttctacgggctctcggagaatgacgagtggaaccaggatagggccaaacccgtcaccagatcgtcagcgcgaggcctgggtagagcagactgtggctttacctcgggtgtcctaccagcaaggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctaggggaaggccaccctgtatgctgtgctggtcagcgccctgtgttgatggccatggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 96)
	Secuencia proteica de cadena beta MGPQLLGYYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYSMNVEVTDKGDVPEGYKVSRKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSAGTGGHEQYFGPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwwngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlvsatfwqnpnrnhfrcqvfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlstilyeillgkatlyavlvsalVlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 97)
Secuencia de PRAME-425-358 MGTM con codones optimizados (también conocido como clon “TCR 358”)	Secuencia de ADN de cadena alfa ATGGAAACCCTGCTGAAGGTGCTGTCTGGCACCCCTGCTGTGCGAGCTGACATGGGTCCGATCTCAGCAGCCTGTGCAGTCTCCTCAGGCCGTGATTCTGAGAGAAGGCGAGGACGCCGTGATCAACTGCAGCAGCTCTAAGGCCCTGTACAGCGTGCACTG

Cadena alfa: TRAV30/TRAJ20/MGTM TRAC modificado	GTACAGGCAGAAACACGGCGAGGCCCCAGTGTTTCTGATG ATT<u>CTGCTGAAAGGCGGCGAGCAGA</u>AAGGGGCCACGATAAGA TCTCCGCCAGCTTCAACGAGAAGAAGCAGCAGTCCAGCCT GTACCTGACAGCCAGCCAGCTGAGCTACAGCGGCACCTATT <u>TCTGTGGCACAGAAGGTA</u>CTGGTGACTACAAGCTCTCTTTT GGAGCCGGAACCACAGTAACTGTAAGAGCAAacatccagaaccc cgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtcacgcagaagagcgtgtgtctg ttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctaca taacggataagaccgtgctggacatgcggagcatggacttaagagcaacagcgccg tggcctggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttaacaacagcatcatc cccgaggacaccttctcccagcagcgacgtgcctgcgacgtgaaactggtggaga agtccttcgagacagacaccaatctgaacttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggat tctgctgctgaaagtggccggcttcaatctgctgatgacctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 98) Secuencia proteica de cadena alfa METLLKVLSGTLLWQLTWVRSQQPVQSPQAVILREGEDAVINC SSS<u>KALYS</u>VHWYRQKHGEAPVFLMI<u>LLKGGEQ</u>KGHDKISASF NEKKQQSSLYLTASQLSYSGTYF<u>CGTEGTGDYKLSF</u>GAGTTV TVRANIqnpdpavyqlrdsksdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvtyitdkvlmrs mdfksnsavawsnkdsfacanafnnsiipedtffpssdvpdcvklveksfetdtnlnfq llvivlrillkvagfnllmtlrlws (SEQ ID NO: 99)
Secuencia de PRAME-425-358 MGTM con codones optimizados (también conocido como clon “TCR 358”) Cadena beta: TRBV27/TRBJ2-7/MGTM TRBC modificado	Secuencia de ADN de cadena beta ATGGGACCTCAGCTGCTGGGATATGTGGTGCTGTGTCTGCT CGGAGCTGGACCCCTGGAAGCTCAAGTGACACAGAACCCC AGATACCTGATCACCGTGACCGGCAAAAAGCTGACCGTGAC CTGTAGCCAGAAC<u>ATGAACCACGAGTAC</u>ATGAGCTGGTAT CGGCAAGACCCTGGCCTGGGGCTGAGACAGATCTACTATA<u>A</u> <u>GCATGAACGTGGAAGTG</u>ACCGACAAAGGCGACGTGCCCGA GGGCTATAAGGTGTCCCGGAAAGAGAAGCGGAACTTTCCA CTGATCCTGGAATCCCCATCTCCTAACCAGACCAGCCTGTA TTTTT<u>TGCGCTAGTTCTGCCGGGACCGGGGGGCATGAGCAA</u> <u>TACTTC</u>GGGCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGaagatctga acaaggtgttcctccagaggtggccgtgttcgagccttcaaggccgagatcgcccac

	acacaaaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaact gtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctc tgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagt gtccgccaccttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacgg cctgagcgagaacgacgagtggaaccaggacagagccaagcccgtgacacaaatc gtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgctcctatcacc agggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgtgggcaaggccaccctgta cgccgtgctggtgtctgtctggtgctgatggccatggtcaagcgggaaggactttggcag cggcagagccaaaaggtccgggagcggt (SEQ ID NO: 100)
	Secuencia proteica de cadena beta MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCS QN<u>MNHEY</u>MSWYRQDPGLRLRQIYY<u>SMNVEV</u>TDKGDVPEGYK VSRKEKRNFLILESPSPNQTSLYF<u>CASSAGTGGHEQYF</u>GPGT RLTVTEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevh sgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnpnrnhfrcqvfyglsendewtqdra kpvtqivsaeawgradcgitsasyhggvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf gsgrakrsgsg (SEQ ID NO: 101)
Secuencia completa de ADN del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina-P2A” codifica para una secuencia que permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete)	ATGGGACCTCAGCTGCTGGGATATGTGGTGCTGTGTCTGCT CGGAGCTGGACCCCTGGAAGCTCAAGTGACACAGAACCCC AGATACCTGATCACCGTGACCGGCAAAAAGCTGACCGTGAC CTGTAGCCAGAAC<u>ATGAACCACGAGTAC</u>ATGAGCTGGTAT CGGCAAGACCCTGGCCTGGGGCTGAGACAGATCTACTATA<u>A</u> <u>GCATGAACGTGGAAGTG</u>ACCGACAAAGGCGACGTGCCCCGA GGGCTATAAGGTGTCCCGGAAAGAGAAGCGGAACCTTTCCA CTGATCCTGGAATCCCCATCTCCTAACCAGACCAGCCTGTA TTTTT<u>TGCGCTAGTTCTGCCGGGACCGGGGGGCATGAGCAA</u> <u>TACTTC</u>GGGCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGaagatctga acaaggtgtccctccagaggtggccgtgtcgagcctctaaggccgagatcgccac acacaaaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggcttttccccgaccacgtggaact gtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctc tgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagt gtccgccaccttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacgg cctgagcgagaacgacgagtggaaccaggacagagccaagcccgtgacacaaatc

	gtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcacc agggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgtgggcaaggccaccctgta cgccgtgctggtgtctgctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggactttggcag cggc<u>agagccaaaagggtccgggagcggtGCGACAAACTTTAGCCTGTT</u> <u>GAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTATG</u> GAAACCCTGCTGAAGGTGCTGTCTGGCACCCCTGCTGTGGC AGCTGACATGGGTCCGATCTCAGCAGCCTGTGCAGTCTCCT CAGGCCGTGATTCTGAGAGAAGGCGAGGACGCCGTGATCA ACTGCAGCAGCTCT<u>AAGGCCCTGTACAGC</u>GTGCACTGGTA CAGGCAGAAACACGGCGAGGCCCCAGTGTTTCTGATGATT<u>C</u> <u>TGCTGAAAGGCGGCGAGCAGA</u>AAGGGCCACGATAAGATCTC CGCCAGCTTCAACGAGAAGAAGCAGCAGTCCAGCCTGTAC CTGACAGCCAGCCAGCTGAGCTACAGCGGCACCTATTTCT<u>TG</u> <u>TGGCACAGAAGGTACTGGTGACTACAAGCTCTCTTTT</u>GGA GCCGGAACCAAGTAAGTGTAAAGAGCAAacatccagaaccccgac cccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcggtgtgtctgtttac ggacttcgacagccagaccaacgtgagtc aaagcaaggacagcgacgtctacataac ggataagaccgtgtgagcatgcggagcatggactcaagagcaacagcgccgtggc ctggtccaacaagagcgacttcgctgcgccaacgcctcaacaacagcatcatccc gaggacaccttctcccagcagcgacgtgcctgcgacgtgaaactggtggagaagt ccttcgagacagacaccaatctgaacttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattct gctgctgaaagtggccggttcaatctgctgatgacctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 102)
Secuencia proteica completa del ORF de las cadenas beta y alfa (la región subrayada y con itálicas en el sitio “Furina- P2A” permite la expresión de dos cadenas polipeptídicas en un mismo casete)	MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCS QN<u>MNHEY</u>MSWYRQDPGLGLRQIYY<u>SMNVEV</u>TDKGDVPEGYK VSRKEKRNFLILESPSPNQTSLYF<u>CASSAGTGGHEQYF</u>GPGT RLTVTEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevh sgvstdpqplkeqpalndsryclssrlvsatfwqnpnrnhfrcqvfyglsendewtqdra kpvtqivsaeawgradcgitsasyhggvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf gsg<u>akrsgsg</u>ATNFSLLKQAGDVEENPGPMETLLKVLSGTLLWQL TWVRSQQPVQSPQAVILREGEDAVINCSSS<u>KALYS</u>VHWYRQK HGEAPVFLMI<u>LLKGGEQ</u>KGHDKISASFNEKKQQSSLYLTASQL SYSGTYF<u>CGTEGTGDYKLSF</u>GAGTTVTVRANiqnpdpavyqlrdsks sdksvcfltdfdfsqtvnvsqskdsdvyyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacana

	fnnsiipedtffpssdvpdcvklveksfetdtnlnfqnlvivirillkvagfnllmtlrws (SEQ ID NO: 103)
--	---

* La Tabla 6 provee, en parte, las secuencias de TCR representativos agrupadas de acuerdo con la presentación en el serotipo de MHC y subagrupadas de acuerdo con los diferentes péptidos presentados por el serotipo de MHC y unidas por los TCR subagrupados. Los TCR individuales, tales como los representativos ejemplificados en las tablas, se describen y reivindican, así como también el género de las proteínas de unión que se unen a una secuencia de epítopo peptídico descrita en la presente ya sea solos o en un complejo con una MHC, tales como aquellos agrupados de las tablas que se proveen en la presente. Además, se proveen los genes TRAV, TRAJ y TRAC para cada cadena alfa del TCR descrito en la presente, y los genes TRBV, TRBJ y TRBC para cada cadena beta del TCR descrito en la presente. Las secuencias de cada TCR descrito en la presente se proveen como pares de cadenas alfa y beta asociadas para cada TCR nombrado. Las secuencias de TCR descritas en la presente están anotadas. Las secuencias de los dominios variables figuran en mayúsculas. Las secuencias de los dominios constantes figuran en minúscula. Las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 están anotadas usando texto en negritas y subrayado. Las CDR1, CDR2 y CDR3 se muestran en el orden estándar de aparición de izquierda (extremo N terminal) a derecha (extremo C terminal). Los genes TRAV, TRAJ y TRAC para cada cadena alfa del TCR descrito en la presente, y los genes TRBV, TRBJ y TRBC para cada cadena beta del TCR descrito en la presente, están anotados de acuerdo con la nomenclatura IMTG bien conocida que se describe en la presente. De igual manera, las CDR1 y CDR2 de TRAV y TRBV son bien conocidas debido a que se basan en secuencias bien conocidas y anotadas de TRAV y TRBV (por ejemplo, anotadas en bases de datos como IMGT disponible en imt.org y IEDB disponible en iedb.org).

* Para ciertos vectores representados, el promotor de MSCV figura en negritas. La cadena beta está anotada usando texto en negritas y en *itálicas*. La cadena alfa está anotada usando texto en negritas y subrayado. La marca de enriquecimiento de CD34 (Q tag) está anotada usando texto en negritas y subrayado. La cadena alfa de CD8 figura en *itálica*. La cadena beta de CD8 figura subrayada.

* La Tabla 6 incluye secuencias polipeptídicas, así como también moléculas de polipéptido que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o más de identidad para toda su longitud con una secuencia de aminoácidos de cualquier secuencia allí provista, o una parte de la misma. Dichos polipéptidos pueden tener una función del péptido o polipéptido de longitud completa como se describe adicionalmente en la presente.

* La Tabla 6 incluye moléculas de ácido nucleico de ARN (por ejemplo, timinas reemplazadas por uridinas), moléculas de ácido nucleico que codifican para ortólogos de las proteínas codificadas, así como también secuencias de ácido nucleico de ADN o ARN que comprenden una secuencia de ácido nucleico que tiene por lo menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o más de identidad para toda su longitud con la secuencia de ácido nucleico de cualquier secuencia allí provista, o una parte de la misma. Dichas moléculas de ácido nucleico pueden tener una función del ácido nucleico de longitud completa como se describe adicionalmente en la presente.

Tabla 7: epitopes de PRAME presentados por el HLA de serotipo HLA-A*02 (por ejemplo, HLA-A*02:01)

Epitopes peptídicos
SLLQHLIGL (SEQ ID NO: 104)

Ejemplo 4: La terapia con células T-TCR en multiplex dirigidas contra MAGEA1 y PRAME mejora la actividad de la terapia adoptiva con células T en modelos preclínicos

El presente Ejemplo se basa en parte en el reconocimiento de que la transferencia adoptiva de células con células T modificadas genéticamente es muy promisorio para el tratamiento de tumores sólidos. Algunas investigaciones clínicas previas de terapias con células T modificadas con TCR (T-TCR) han estado dirigidas a un antígeno por vez y, en varios casos, han producido tasas de respuesta en el rango entre 30 y 50%. Se ha observado que las respuestas completas a dichas terapias han sido escasas, y las respuestas con frecuencia son de corta duración. Sin limitarse a ninguna teoría científica particular, una posible razón del porqué los pacientes sufren recaída rápidamente después de responder a dichas terapias es que sus tumores exhiben heterogeneidad sustancial de expresión de antígeno: no cada célula cancerosa en un tumor expresa la diana de una terapia mono TCR e, incluso cuando lo hacen, la diana se expresa en niveles variables entre las células tumorales individuales. Esto sugiere que la T-TCR dirigida contra un antígeno podría permitir que las células que carecen del antígeno tratado se escapen y provoquen una recaída.

El presente Ejemplo presenta el desarrollo de una terapia con células T-TCR en multiplex en la cual se trata un paciente con productos de células con T-TCR múltiples, seleccionados de una colección de TCR preexaminados que coinciden con los antígenos del tumor del paciente y el tipo de HLA, como una solución para abordar la heterogeneidad antigénica. A modo de prueba de concepto, se seleccionaron dos antígenos de cáncer/testículos diferentes blanco de dos TCR diferentes. Uno de estos antígenos, MAGEA1, se identificó como la diana de las células T infiltrantes de tumor expandido de un paciente con cáncer de cabeza y cuello usando tecnología de cribado por

TScan como se describe en Luomo y col. (2022) *Cell*.S0092-8674(22)00723-1. El otro de los antígenos, PRAME, se expresa de manera elevada en una variedad de cánceres. El presente Ejemplo incluye el desarrollo de dos TCR de alta afinidad que reconocen epitopes restringidos a HLA-A*02:01 de MAGEA1 y PRAME (véanse las Tablas 5 y 7, respectivamente). Los beneficios de combinar estos dos productos de células T-TCR, que tienen secuencias de acuerdo con la Tabla 4 y la Tabla 6, respectivamente, se evalúan usando una variedad de modelos preclínicos. Por ejemplo, se pueden usar los productos de células T-TCR TSC-203-A0201 y TSC-204-A0201, tales como aquellas que expresan TCR contra MGTM y que tienen optimización de codones.

Individualmente, se cree que ambos TCR (es decir, los TCR que reconocen MAGEA1 y PRAME, respectivamente) muestran una fuerte actividad citotóxica *in vitro* cuando se cocultivan con líneas celulares de cánceres con coincidencia de HLA que expresan MAGEA1 y PRAME endógenos. Además, en los modelos de ratón con xenoinjerto, se cree que cada TCR tiene la capacidad de controlar el crecimiento de tumores que expresan sus antígenos asociados y HLA.

Se ensayó una mezcla de dos líneas celulares diferentes que expresan MAGEA1 o PRAME junto con HLA-A*02:01 *in vitro* o se cultivó como tumores xenoinjertados en ratones y tratados con T-TCR ensayados de manera individual, o con una mezcla de los dos T-TCR. Notablemente, los T-TCR específicos para MAGE y los T-TCR específicos para PRAME se diseñaron para estar dirigidos selectivamente contra su respectivo subconjunto de célula diana y el T-TCR MAGEA1/PRAME en multiplex se diseñaron para estar dirigido en forma simultánea a ambos subconjuntos de células cancerosas. Cuando se tratan con los T-TCR MAGEA1/PRAME en multiplex, los ratones se diseñaron para obtener un control del tumor de larga duración en comparación con el T-TCR dirigido contra un antígeno único.

Se espera que los hallazgos que se informan en este Ejemplo y que se resumen de manera adicional en la Figura 6 demuestran que las células T-TCR en multiplex es un medio potente para hacer blanco en cáncer con expresión de antígenos diana heteróloga y, por lo tanto, una estrategia ventajosa para la terapia. Sin limitarse a ninguna teoría científica particular, el presente Ejemplo demuestra que las células T-TCR en multiplex imita la respuesta de células T oligoclonal natural contra el cáncer y tiene el potencial de superar la heterogeneidad antigénica, que puede contribuir a la falta observada de durabilidad en los ensayos clínicos con T-TCR como monoterapia. Los ensayos de cocultivo descritos son relativamente cortos en duración y se cree que se puede observar una actividad sinérgica adicional (tal como a partir de los fenómenos dependientes de citoquinas descritos en la presente) en otros ensayos, tal como, por ejemplo, la reducción en la proporción de efectora a diana de uno o más TCR de una combinación de TCR para mostrar los efectos de sustento del o los otros TCR sobre el o los TCR reducidos, en estudios de duración prolongada, y similares.

En la Figura 6 se muestran ejemplos representativos de la expresión de antígeno variable en muestras de tumor de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). Se realizó una inmunohistoquímica

en microarreglos de tumor NSCLC de humano usando un anticuerpo específico contra MAGE-A1 (clon SPM282; Abcam Cat# ab25834) o anticuerpo específico contra PRAME (clon EPR20330; Abcam Cat# ab219650). Se observó expresión de antígeno heterogénea en el tumor en secciones múltiples representada por MAGE-A1 y PRAME con grados variables de expresión. También se muestra un control de tumor sin teñir.

En la Figura 6 también se muestra la caracterización de un TCR que reconoce un epítopo derivado de MAGE-A1 presentado en HLA-A*02:01, y de un TCR que reconoce un epítopo derivado de PRAME presentado en HLA-A*02:01. Se realizaron cocultivos de células T-TCR que expresan el TCR específico para MAGE-A1 con un panel de líneas celulares de cáncer positivas para HLA-A*02:01 que presentan un rango de MAGE-A1 (es decir, MCI0H1703, HJS936T, y A375) o del TCR específico para PRAME con células que presentan un rango de expresión de PRAME (es decir, HS695T, A375 y NCI-H15632). Las líneas de células positivas para HLA-A*02:01, pero negativas para MAGE-A1 (A2-HEK293T) o PRAME (647-V), se ensayaron como controles negativos.

Las células T-TCR usadas en estos experimentos fueron células pan T diseñadas por transducción con lentivirus. El vector contiene modificaciones MGTM y los correceptores CD8 α y CD8 β se coadministraron junto con el TCR recombinante principalmente para asegurar el reconocimiento de los TCR en la fracción CD4⁺ de las células pan T.

Los datos demuestran que cada T-TCR presenta una alta potencia y selectividad por las células que presentan el péptido cognado/MHC (pMHC), matando a las células diana relevantes, a la vez que evitan la línea celular negativa para la proteína diana.

También se realizaron estudios de eficacia *in vivo* para evaluar de manera adicional la potencia de las células T-TCR individuales. Se implantaron ratones hembra NOD-*Prkdc^{em26Cd52}Il2r^{gem26Cd22}*/NjuCrl (NCG) por vía subcutánea con células cancerosas U266B1 (células positivas para HLA-A*02:01 que expresan MAGE-A1). Los animales con tumores en crecimiento confirmados (con volúmenes tumorales promedio de aproximadamente 100 mm³; 21 días luego de la inoculación) se separaron al azar en diferentes grupos experimentales y recibieron dos inyecciones intravenosas de células T-TCR MAGE-A1 (20E6 cada una; inyectado el día de la separación, y nuevamente una semana después), o de con células T control no modificadas con coincidencia del donante (20E6 cada una; inyectado el día de la aleatorización, y nuevamente una semana después). Se midieron los volúmenes de tumor dos veces por semana. Si bien los animales del grupo control presentaron tumores en crecimiento que alcanzaban más de 800 mm³ de promedio en el día 42, los ratones tratados con las células T-TCR específicas para MAGE-A1 mostraron una respuesta antitumoral robusta.

En un experimento similar, se implantaron células Hs695T (células positivas para HLA-A*02:01 que expresan PRAME) en animales NCG hembra y recibieron una dosis única de células T-TCR específico para PRAME o de células T control no modificadas de donante compatible (células

T 20E6, un día después de la aleatorización). Los animales que se inyectaron con células T-TCR presentaron una respuesta antitumoral en comparación con los animales tratados con las células T control.

Estos estudios confirmaron que la inyección intravenosa de células T-TCR puede controlar en forma exitosa el crecimiento de tumores positivos para pMHC inoculados subcutáneamente en ratones, lo que confirma la potencia de las células T-TCR individuales.

Se llevaron a cabo experimentos *in vitro* para demostrar el valor de combinar las células T-TCR para tratar un tumor heterogéneo. Se modificaron adicionalmente células HEK293T reporteras que expresan exclusivamente HLA-A*02:01 y que expresan una proteína fluorescente en infrarrojo (IFP) activada por granzima B para expresar MAGE-A1 o bien PRAME. Las células que expresan MAGE-A1 se marcaron con GFP, y las células positivas para PRAME se marcaron tanto con GFP como con Violeta CellTrace™ para permitir el seguimiento en las lecturas corriente debajo de citometría de flujo. Cuando una célula T-TCR reconoce una célula diana, secreta gránulos citotóxicos hacia la célula diana, haciendo que la célula diana se vuelva fluorescente (positiva para IFP). Las dos células diana (es decir, positivas para PRAME o para MAGE-A1) se mezclaron en una proporción equilibrada y se cocultivaron con células T-TCR anti-MAGE-A1, células T-TCR anti-PRAME, o un producto en multiplex que combina las dos células T-TCR. Las células T-TCR anti-PRAME y las células T-TCR anti-MAGE-A1 se modificaron a partir de las células T del mismo donante. Las células T-TCR correspondían a las células pan T modificadas por transducción con lentivirus usando un vector de administración que emplea una modificación de MGTM y coadministra los correceptores CD8 α y CD8 β como se describió anteriormente (tal como en la Tabla 1). También se incluyeron células T no modificadas (NTC) de donante compatible como control. Luego, el experimento midió la proporción de cada subconjunto de dianas (diana con MAGE-A1 positiva para GFP; diana de PRAME positiva para GFP/CTV) reconocidas y alcanzadas por las células T-TCR de acuerdo con la medida mediante la proporción de dianas positivas a GFP o GFP/CTV que se vuelven positivas a IFP. El NTC no indujo ninguna positividad de IFP en ningún subconjunto diana. Cuando las células T-TCR anti-MAGE-A1 se cocultivaron con las células diana mixtas, la proporción de células positivas para GFP y positivas para IFP se incrementó, pero no la de células positivas para GFP/CTV. Estos resultados demuestran que solo el subconjunto positivo para MAGE-A1 fue reconocido bajo esta condición de cultivo. Por el contrario, cuando las células T-TCR anti-PRAME se cocultivaron con la mezcla de células diana, la proporción de células diana positivas para GFP/CTV y también positivas para IFP se incrementó, pero no la de las células diana positivas para GFP. Estos resultados confirman que solo el subconjunto de células diana positivas para PRAME fue alcanzado bajo esta condición de cocultivo. Por último, ante del cocultivo de una mezcla de células T-TCR anti-PRAME y células T-TCR anti-MAGE-A1 con las células diana mixtas, tanto el subconjunto de células positivas para GFP como el de células positivas para GFP/CTV presentaron

señal de positividad para IFP, revelando que ambos subconjuntos de célula diana fueron reconocidos de forma eficaz. La proporción de cada subconjunto que se vuelve positivo para IFP en el cocultivo con el producto en multiplex fue comparable con la observada cuando el cocultivo se hace con cada producto de célula T-TCR individual.

En resumen, los datos demuestran que aunque cada producto de célula T-TCR individual fue capaz de direccionarse a las células positivas con el pMHC de interés, el producto en multiplex fue necesario para alcanzar en forma amplia la mezclas heterogénea de células cancerosas.

También se inoculó la mezcla de células HEK293T que expresan MAGE-A1 o bien PRAME junto con HLA-A*02:01 por vía subcutánea en ratones NCG hembra. Una vez que el tumor alcanzó los 100 mm³ en promedio, se aleatorizaron los animales para recibir una inyección intravenosa individual de 20E6 células T-TCR anti-MAGE-A1, 20E6 células T-TCR anti-PRAME, o de un producto en multiplex que consiste en 10E6 células T-TCR anti-MAGE-A1, y 10E6 células T-TCR anti-PRAME, o un producto en multiplex que consiste en 20E6 de células T-TCR anti-MAGE-A1 y 20E6 células T-TCR anti-PRAME. Un grupo de animales recibió una inyección intravenosa con 20E6 células T no modificadas de donante compatible. En estos experimentos se usaron las mismas células T efectoras que las descritas anteriormente. Luego se midieron los volúmenes tumorales dos veces por semana. Los animales del grupo control mostraron tumores de crecimiento rápido; los volúmenes tumorales alcanzaron más de 1000 mm³ al final del estudio (en el Día 24 después de la inoculación). Por otro lado, los animales dosificados con cada subconjunto de células T-TCR individual presentaron con tumores con un crecimiento a una tasa menor, solo alcanzando aproximadamente entre 600 y 750 mm³ al final del estudio. Los animales que recibieron los productos de célula T-TCR mutiplexados alcanzaron una respuesta más amplia y más durable en comparación con los animales que recibieron el producto de célula T-TCR individual con volúmenes tumorales promedio de aproximadamente 500 mm³ (10E6 de cada célula T-TCR) o aproximadamente 300 mm³ (20E6 de cada célula T-TCR). Junto con los datos *in vitro* que se presentaron en la Figura 6 y se describieron anteriormente, estos datos confirman que cada célula T-TCR solo alcanza a un subconjunto dentro del tumor heterogéneo, consiguiendo una respuesta parcial: un subconjunto de células cancerosas continúa siendo resistente al agente de células T-TCR individual e impulsa la recaída. Por otro lado, mediante el direccionamiento amplio a los dos subconjuntos celulares del tumor heterogéneo, el producto de célula T-TCR mutiplexado previno la selección de células resistentes y consiguió una mayor respuesta antitumoral.

Más aún, en la Figura 6 se ilustra el concepto de una estrategia basada en Banco Inmunológico para una terapia con TCR terapéuticos, en donde se utilizan varios TCR terapéuticos contra múltiples proteínas asociadas a cáncer en conjunto con restricciones de HLA para permitir combinaciones personalizadas de terapias basadas en TCR en base a la biología tumoral para cada paciente. Para cada paciente, las decisiones de tratamiento se hacen mediante la determinación de

(a) qué proteínas asociadas a cáncer (filas del Banco Inmunológico) se expresan en su o sus tumores, usando inmunohistoquímica (IHC) o reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa (RT-PCR) y (b) qué genes HLA (columnas del Banco Inmunológico) están intactos en su o sus tumores (es decir, que no han sufrido pérdida de heterocigosidad [LOH] en el locus HLA) medidos por secuenciación genómica. Una vez determinados la diana y el perfil HLA del tumor del paciente, se seleccionan múltiples TCR (por ejemplo, 2 TCR, 3 TCR, etc.) a partir del Banco Inmunológico para preparar un producto farmacológico de células T-TCR en multiplex personalizado.

Ejemplo 5: la terapia con células T-TCR en multiplex contra la misma diana usando diferentes TCR que reconocen epítopes presentados en distintos HLA aumenta la actividad de la terapia adoptiva con células T en modelos preclínicos

El presente Ejemplo se basa en parte en el reconocimiento de que la transferencia adoptiva de células con células T genéticamente modificadas constituye una gran promesa para el tratamiento de tumores sólidos.

Los pacientes positivos para alelos particulares de HLA de interés, tales como HLA-A*02:01 y HLA-C*07:02, son susceptibles al tratamiento con TCR que reconocen epítopes de una diana dada presentados por dichos HLA, tales como TSC-204-A0201 y TSC-204-C0702, respectivamente (por ejemplo, mediante infusiones concomitantes o sucesivas de los TCR). Los pacientes en los que los alelos particulares de HLA existen en cromosomas separados (haplotipos separados) tienen mayor probabilidad de resistencia a la pérdida de HLA, debido a que las células tumorales que pierden ambos haplotipos de HLA de clase I son alcanzadas por las células asesinas naturales (NK) (O'Connor y col. (2006) *Immunol.* 117:1-10). Se pueden usar otros componentes de T-TCR, que se dirigen a diferentes dianas y a un rango más amplio de tipos de HLA, para potenciar más la combinación de TCR y permitir un rango más amplio de pacientes a tratar con las células T-TCR en multiplex.

El presente Ejemplo presenta el desarrollo de una terapia con células T-TCR en multiplex en el que se trata un paciente con múltiples productos de células T-TCR, seleccionados a partir de una colección de TCR preaprobados compatibles con los antígenos tumorales y el tipo de HLA del paciente, como una solución para enfrentar la heterogeneidad antigénica. Como ejemplo representativo no limitante, se seleccionaron dos TCR diferentes para tratamiento con células T-TCR en multiplex, con cada TCR direccionado contra un epítope diferente de la misma diana pero presentado por un alelo diferente de HLA. Se usaron los TSC-204-A0201 y TSC-204-C0702 en una forma que consiste en células pan T (que comprenden tanto células T CD4⁺ como CD8⁺, modificadas mediante administración génica medida por transposón/transposasa, para expresar (1) el respectivo TCR recombinante, (2) los correceptores recombinantes CD8 α y CD8 β para maximizar la eficacia del producto terapéutico, (3) una marca de epítope derivado de CD34 fusionada al extremo N-

terminal de CD8 α para facilitar el seguimiento de las células modificadas por ingeniería *in vitro* e *in vivo*, (4) un receptor de TGF β de tipo II dominante negativo (DN-TGF β RII) para abordar la supresión inmunológica mediada por el microambiente tumoral, y (5) una forma mutada de la proteína dihidrofolato reductasa (DHFRdm) para facilitar el enriquecimiento de las células modificadas por ingeniería durante el proceso de elaboración. No obstante, se cree que los resultados que se muestran en los datos que se proveen en la presente son atribuibles a la función de los TCR en sí mismos.

La caracterización *in vitro* de los materiales TSC-204-A0201 y TSC-204-C0702 demostró que las células T-TCR participan en una respuesta dependiente de la diana que conduce a la secreción de citoquinas inflamatorias, la expansión de las células T efectoras, y en última instancia, la muerte de las células diana (Figura 7). Debido a que los epitopes derivados de MAGE-A1 alcanzados por el TSC-204-A0201 o el TSC-204-C0702 se presentan en las MHC de clase I HLA-A*02:01 y HLA-C*07:02, respectivamente, los TCR recombinantes usan los correceptores CD8 $\alpha\beta$ para involucrar a los pMHC. Las células T colaboradoras (CD4 $^{+}$) no expresan en forma natural el correceptor CD8 $\alpha\beta$. Se coadministran los correceptores exógenos CD8 α y CD8 β a las células T modificadas junto con el TCR terapéutico para facilitar la capacidad de las células T colaboradoras CD4 $^{+}$ para reconocer el epítopo restringido a clase I. Las células T CD4 $^{+}$ modificadas contenidas en TSC-204-A0201 y en TSC-204-C0702 se someten a proliferación junto a las células T citotóxicas CD8 $^{+}$ modificadas, demostrando la participación funcional de las células T colaboradoras. Además, debido a que las células T modificadas expresan el DN-TGF β RII, las células T-TCR TSC-204-A0201 y TSC-204-C0702 son activas incluso en presencia de TGF β , una citoquina inmunosupresora que se puede observar en el microambiente de los tumores sólidos.

En las Figuras 8 y 9 se muestran los resultados para las células T-TCR de tres lotes independientes de TSC-204-A0201 y TSC-204-C0702 aplicados a una población heterogénea de células cancerosas diana generadas para simular un tumor positivo para MAGE-A1 en donde ha ocurrido LOH. En resumen, se usó la línea celular de cáncer U266B1 positiva para MAGE-A1, positiva para HLA-A*02:01 y positiva para HLA-C*07:02 (es decir, la línea celular TIB-196 disponible en ATCC). Las células se modificaron mediante noqueo con CRISPR para crear dos versiones de la línea celular en donde solo uno de los dos HLA de interés está intacto (noqueo de HLA-A*02:01 o de HLA-C*07:02). Las células diana U266B1 HLA-C*07:02 KO, “Diana de A2”, y U266B1 HLA-A*02:01 KO, “Diana de C7”, se marcaron con código de barras con Violeta CellTrace™ y CFSE, respectivamente. Después del cocultivo en singleplex (TSC-204-C0702 o TSC-204-A0201) o multiplex (T-Plex-204-A0201/204-C0702), las suspensiones celulares se marcaron con marcador de viabilidad LIVE/DEAD™ para determinar la viabilidad de las células diana. Cada subconjunto de células diana se marcó con diferentes rótulos fluorescentes para hacer el seguimiento en las lecturas de la citometría de flujo corriente abajo antes de mezclarse en una proporción 1:1.

Se prepararon las células T efectoras. En el día previo al desarrollo del ensayo, se descongelaron las células T efectoras-TCR en un baño de agua a 37°C y se lavaron con medio para células T libre de citoquinas. Se determinó la concentración y viabilidad celular (CCV), y las células T-TCR viables se sembraron a una concentración de 1E6 células/mL en una placa G-REX® 6M en medio completo para células T. Las células T-TCR se recuperaron en un incubador humidificado a 37°C y 5% de CO₂ entre 16 y 24 horas antes del cultivo. Después de descongelar y recuperar durante una noche, las células T efectoras-TCR se cosecharon, se lavaron con medio para células T libre de citoquinas y se resuspendieron a 2E6 células viables/mL en medio para células T libre de citoquinas para preparar las condiciones en singleplex y multiplex. Cada suspensión de células T-TCR se alicuotó para el plaqueo de las condiciones de singleplex de los controles positivos. El resto de las suspensiones de células T-TCR se combinaron en una proporción 1:1 para los tres lotes para crear las condiciones “T-Plex” de muestra de prueba (2E6 células viables/mL).

De igual manera, se prepararon las células diana. Las células diana se descongelaron, se expandieron y se mantuvieron en cultivo durante no más de 20 pasajes, luego se descartaron. En el día antes del inicio del cocultivo, se cosecharon las células diana y se midió y registró la CCV. Luego se sembraron las dianas células a 4E5 células viables/mL para sincronizar la fase del ciclo celular. En el día del cocultivo, se cosecharon las células diana y se determinó la CCV. Las células cosechadas se lavaron, y se ajustó la densidad celular a 1E6 células/mL en PBS libre de proteínas. Las células diana U266B1 HLA-C*07:02 KO se marcaron con violeta cell trace y las células diana U266B1 HLA-A*02:01 KO se marcaron con CellTrace™ CFSE, ambas a 1:2000 de acuerdo con las instrucciones del fabricante y en última instancia se resuspendieron a 5E5 células viables/mL en medio basado en RPMI. Después del marcado con CellTrace™, cada suspensión de célula diana (5E5 células viables/mL) se separó en alícuotas para el plaqueo de los controles negativos. Se realizaron preparaciones de célula diana heterogéneas a partir de las suspensiones de células diana remanentes (5E5 células viables/mL), que se combinaron en una proporción 1:1 para cocultivarlas con los controles positivos, en muestras de ensayo singleplex, y T-Plex.

Además, se prepararon cocultivos. Las células diana heterogéneas se cocultivaron luego con diferentes mezclas de células T-TCR elaboradas exclusivamente de TSC-204-A0201, de TSC-204-C0702 (correspondiente a productos de célula T-TCR de monoterapia o “en singleplex”), o de una mezcla balanceada de TSC-204-A0201 y TSC-204-C0702 (es decir, producto de células T-TCR “en multiplex”). En resumen, se plaquearon las células diana en un pocillo de muestra (placa de 96 pocillos de fondo en U) y luego se agregaron las suspensiones de célula efectora en singleplex o en multiplex por encima de las células diana. El volumen final fue de 200 µL/pocillo que consiste en una mezcla 50/50 de células diana (100 µL) y células efectoras (100 µL) en medio RPMI para células diana y medio para células T libre de citoquinas y medio para células diana, respectivamente. Las células se regresaron al incubador y el cocultivo se incubó durante 20 a 24 horas. Cada pocillo de

control positivo o de muestra de ensayo contenía la suspensión objetivo combinada de 5E4 células viables totales que consiste en 50% de U266B1 HLA-C*07:02 KO marcadas con CTV (2,5E4 células totales) y 50% de U266B1 HLA-A*02:01 KO marcadas con CTCFSE (2,5E4 células totales). Cada pocillo de muestra en condición singleplex contenía 2E5 células viables totales de la suspensión de células efectoras, TSC-204-A0201, o TSC-204-C0702, combinadas con 5E4 células viables totales de la suspensión de células diana combinadas. Esto representa una proporción de efectora a diana (E:T) total de 4:1 y una proporción de efectora a diana específica de 8:1. Cada pocillo de muestra en condición T-Plex contenía 2E5 de células totales de la suspensión de células combinadas, T-Plex-204-A0201/204-C0702, que consiste en 50% de TSC-204-A0201 (1E5 células totales) y 50% de TSC-204-C0702 (1E5 células totales). Además, este pocillo se combinó con 5E4 células totales de la suspensión de células diana combinadas. Esto representa una proporción E:T de 4:1 y una proporción de efectora a diana específica de 4:1.

La actividad citotóxica de las células T-TCR contra las células diana se evaluó mediante citometría de flujo por evaluación de la composición relativa de cada población de células diana en las células residuales. Al final del cocultivo, se decantaron las células mediante centrifugación y luego se resuspendieron en indicador de viabilidad LIVE/DEAD™ durante 20 minutos, se protegió de la luz, a 4°C para determinar la viabilidad de las células. Después de un lavado se resuspendieron las células en EasySep™ y se agregaron esferas para recuento CountBright™ Absolute de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La placa de ensayo se adquirió en el citómetro inmediatamente después de agregar las esferas de recuento. La adquisición de datos se realizó en un citómetro de flujo CytoFLEX S de acuerdo al SOP-Uso del instrumento SOP-PC-0001 y el mantenimiento del CytoFLEX. La compensación se realizó automáticamente con el programa de computación CytExpert. El análisis de citometría de flujo se realizó con FlowJo v7.6.5, los datos estadísticos se exportaron a Microsoft Excel 2010 y se analizaron. Los datos analizados seleccionados se graficaron en GraphPad Prism (v5.02).

La estrategia de selección se ilustra en las Figuras 8A-8E. En resumen, las células se seleccionaron a partir del gráfico de puntos FSC versus SSC. Las subpoblaciones se distinguieron usando el gráfico de CellTrace™ CFSE versus Violeta CellTrace™; Dianas C0702 (CellTrace™ CFSE⁺/Violeta⁻ CellTrace™), dianas A0201 (CellTrace™ CFSE⁻/Violeta⁺ CellTrace™) y efectoras (CellTrace™ CFSE⁻/Violeta⁻ CellTrace™). Las células viables de cada subpoblación se identificaron usando el histograma LIVE/DEAD™. Las células muertas tienen una intensidad alta de fluorescencia debido a que el indicador LIVE/DEAD™ reacciona con las aminos libres intracelulares y extracelulares de la membrana celular comprometida. Las células viables se pueden distinguir ya que presentan una menor intensidad de fluorescencia ya que el indicador está restringido solo a las aminos extracelulares.

La muerte de las células diana se definió por el porcentaje de muerte determinado por resta del porcentaje de viabilidad de la muestra de ensayo a la viabilidad del control negativo, dividiendo luego por el control negativo. Cuando el porcentaje de viabilidad para la muestra de ensayo aumentó por encima del valor de viabilidad del control negativo, el basal, el valor de muerte porcentual se informó como 0% de muerte.

Para cuantificar el recuento absoluto de células diana viables adquiridas a partir de un pocillo de muestra, se agregaron 20 μ L de esferas para recuento CountBright™ Absolute (20.400 esferas/20 μ L) a un volumen de 120 μ L de suspensión. El volumen de la muestra de células adquirido se multiplicó por la concentración del recuento de células absoluto para determinar el recuento total de células viables adquiridas.

La viabilidad basal de células diana se determinó usando controles negativos. En resumen, las U266B1 HLA-A*02:01 KO dianas marcadas con CellTrace™ CFSE (es decir, “Dianas de C7”), están intactas para el HLA-C*07:02 junto con la proteína MAGE-A1. Estas constituyen células diana para las células T-TCR TSC-204-C0702. Las U266B1 HLA-C*07:02 KO dianas marcadas con Violeta CellTrace™ (es decir, “Dianas de A2”), expresan HLA-A*02:01 y la proteína MAGE-A1. Estas constituyen células diana para las células T-TCR TSC-204-A0201. Para determinar la viabilidad basal de cada diana individual después de un cultivo durante una noche, se crearon los controles negativos; se cocultivaron TSC-204-C0702 con las células diana U266B1 HLA-C*07:02 KO (“dianas de A2”) solamente, y las TSC-204-A0201 se cocultivaron con las células diana U266B1-A*02:01 KO (“diana de C7”) solamente. La viabilidad promedio basal para U266B1 HLA-A*02:01 KO (diana de C7) fue de 67,57% (n=3) y 61,53% (n=3) para U266B1 HLA-C*07:02 KO (Diana de A2). El recuento total de células viables y el porcentaje de viabilidad se muestran como datos para los “controles” en la Figura 9. Estos valores basales se usaron para calcular la muerte específica mediada por células T-TCR.

De igual manera, se observó muerte mediada por células T-TCR de células diana usando controles positivos. En resumen, para determinar el beneficio de la muerte mediada por T-Plex-204-A0201/204-C0702, se creó una suspensión de células que consiste en 50% de U266B1 HLA-C*07:02 KO marcadas con CTV y 50% de U266B1 HLA-A*02:01 KO marcadas con CTCFSE. La diana resultante fue heterogénea ya que un subconjunto de las células expresó HLA-A*02:01 pero no HLA-C*07:02, y el otro subconjunto expresó HLA-C*07:02 pero había perdido a HLA-A*02:01. Esta combinación de dianas “A2+C7” se cocultivó con productos de células T-TCR que consisten en TSC-204-A0201 o TSC-204-C0702 como monoterapias (“en singleplex”) para demostrar la capacidad de muerte de cada componente individual de T-Plex. Estas condiciones sirvieron como los controles positivos.

Los resultados de muerte porcentual (calculada como la disminución de la viabilidad en relación al basal como se describe precedentemente) en relación al recuento total de células viables

y porcentaje de viabilidad se muestran en la Figura 9. En particular, las células T-TCR TSC-204-A0201 de tres lotes independientes demostraron muerte específica mediada por células de las células diana U266B1 HLA-C*07:02 KO (58,88%, 69,01% y 64,30%, respectivamente), pero no mataron a las células diana U266B1 HLA-A*02:01 KO (0% de muerte específica para los 3 lotes ensayados). De igual manera, las células T-TCR TSC-204-C0702 de tres lotes independientes demostraron muerte mediada por células de las células diana U266B1 HLA-A*02:01 KO (48,84%, 59,84% y 47,66%, respectivamente), pero sistemáticamente evitaron a las U266B1 HLA-C*07:02 KO (0% de muerte específica para los 3 lotes ensayados). Estos datos confirman que, en aislamiento, cada componente individual de las células T-TCR de T-Plex matan de manera selectiva a las células diana intactas para el HLA de relevancia.

Para determinar la capacidad de muerte tumoral de T-Plex-204-A0201/204-C0702, se combinaron los componentes de célula T-TCR individual con coincidencia de donante de tres lotes independientes de material representativo del proceso y se cocultivaron con la combinación de dianas heterogénea “A2+C7”. Tal como se muestra en la Figura 9, los tres lotes presentaron una tendencia similar confirmando que la viabilidad de la mezcla heterogénea de células diana con los tres lotes de T-Plex-204-A0201/204-C0702. La codificación de barras de las dos poblaciones de células diana permitió el análisis específicamente de la viabilidad de los subconjuntos de dianas de A2 y C7. Las células diana U266B1 HLA-C*07:02 KO disminuyeron en viabilidad cuando se cocultivaron con T-Plex-204-A0201/C0702 o con las células T-TCR TSC-204-A0201 aisladas. De igual manera, la viabilidad de las células diana U266B1 HLA-A*02:01 KO disminuyó cuando se cocultivaron con T-Plex-204-A0201/C0702 o con las células T-TCR TSC-204-C0702 aisladas.

Cuando se compara con la viabilidad basal mencionada precedentemente, la muerte específica (calculada como la disminución de la viabilidad en relación al basal descrito precedentemente) demostró que los productos T-Plex-204-A0201/204-C0702 de los tres lotes independientes tuvieron una actividad de muerte tumoral específica con las células diana U266B1 HLA-C*07:02 KO de 55,31%, 71,18%, y 60,89%, respectivamente, y con las células diana U266B1 HLA-A*02:01 KO de 53,38%, 61,77% y 48,45%, respectivamente. Notablemente, la actividad de muerte individual de los productos de células T-TCR TSC-204-C0702 y TSC-204-A0201 fue comparable con la actividad de muerte combinada de T-Plex-204-A0201/204-C0702, indicando una función eficaz de los dos componentes de célula T-TCR combinados. Tal como se describe precedentemente, los ensayos son relativamente cortos en duración y se cree que se puede observar una actividad sinérgica adicional (tal como por un fenómeno dependiente de citoquinas descrito en la presente) en otros ensayos, tal como, por ejemplo, reducción en la proporción de efectora a diana de uno o más TCR de una combinación de TCR para mostrar los efectos de sustento del o los otros TCR sobre el o los TCR reducidos, en estudios más prolongados, y similares.

Por lo tanto, los resultados que se proveen en la Figura 9 demuestran que, frente a una población heterogénea de células diana, un componente individual de células T-TCR ataca en forma eficaz una fracción de las células tumorales, dejando intacto el subconjunto de células que no pueden ser reconocidas por las células T-TCR (aquí, debido a que las células pierden el HLA de interés). La terapia con células T-TCR e múltiples (aquí, la combinación de TSC-204-A0201 y TSC-204-C0702) conduce a la muerte de ambos subconjuntos de células cancerosas en forma simultánea. Por lo tanto, los datos establecen que las terapias con múltiples células T-TCR, tales como TSC-204-A0201 y TSC-204-C0702, pueden combinarse para tratar un tumor en donde ha tenido lugar una LOH para maximizar las posibilidades de alcanzar una respuesta completa.

Incorporación a modo de referencia

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente que se mencionan en la presente se incorporan a la presente a modo de referencia en su totalidad como si cada publicación, patente o solicitud de patente individual estuviese específica e individualmente indicada como incorporada a modo de referencia. En caso de conflicto, la presente solicitud, incluyendo cualquier definición en la presente, será la que prevalezca.

Además se incorporan a modo de referencia en su totalidad todas las secuencias polinucleotídicas y polipeptídicas que hagan referencia a un número de acceso que se correlacione con una entrada de una base de datos pública, tal como las mantenidas por The Institute for Genomic Research (TIGR) en la World Wide Web en tigr.org y/o el National Center for Biotechnology Information (NCBI) en la World Wide Web en ncbi.nlm.nih.gov.

Equivalentes y alcance

En la descripción anterior se establecen los detalles de una o más formas de realización abarcadas por la presente invención. A pesar de que anteriormente se han descrito los materiales y métodos representativos ejemplificativos, se puede usar cualquier material y método similar o equivalente a los descritos en la presente para la puesta en práctica o las pruebas de las formas de realización abarcadas por la presente invención. Otras características, objetos y ventajas relacionadas con la presente invención serán evidentes a partir de la descripción. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos que se usan en la presente tienen el mismo significado que el comúnmente comprendido por los expertos en el arte a la que pertenece la presente invención. En caso de conflicto, la presente descripción provista anteriormente será la que prevalezca.

Los expertos en el arte reconocerán o serán capaces de determinar, usando no más que una experimentación de rutina, muchos equivalentes de las formas de realización específicas abarcadas por la presente invención descrita en la presente. El alcance abarcado por la presente invención no

está limitado por la descripción que se provee en la presente y dichos equivalentes están abarcados por las reivindicaciones adjuntas.

También se señala que el término “comprender” está destinado a ser abierto y permite, pero no requiere, la inclusión de elementos o pasos adicionales. Cuando en la presente se usa el término “comprender”, también se considera abarcado y divulgado el término “consistir en”.

Cuando se proveen rangos, los puntos finales se consideran incluidos. Además, ha de comprenderse que a menos que se indique lo contrario o que sea de otro modo evidente a partir del contexto y comprensión de los expertos en el arte, los valores que se expresan en la forma de rangos pueden asumir cualquier valor o subrango específico dentro de los rangos mencionados en las diferentes formas de realización abarcadas por la presente invención, a la décima de unidad del límite inferior del rango, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Además, ha de comprenderse que cualquier forma de realización particular abarcada por la presente invención que caiga dentro del arte previo puede ser explícitamente excluida de una o más cualesquiera de las reivindicaciones. Debido a que dichas formas de realización se consideran conocidas para los expertos en el arte, las mismas pueden excluirse incluso aunque la exclusión no esté explícitamente establecida en la presente. Cualquier forma de realización particular de las composiciones abarcadas por la presente invención (por ejemplo, cualquier antibiótico, terapéutico o ingrediente activo; cualquier método de producción; cualquier método de uso; etc.) puede excluirse de una o más cualesquiera de las reivindicaciones, por cualquier razón, esté no relacionada con la existencia de arte previo.

Ha de comprenderse que las palabras se han usado como palabras de descripción más que de limitación, y que se pueden realizar cambios dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas sin apartarse del verdadero alcance y espíritu abarcado por la presente invención en sus aspectos más amplios.

Si bien la presente invención se ha descrito con cierta extensión y con algunas particularidades con respecto a varias formas de realización descritas, no se pretende que la misma deba limitarse a dichas particularidades o formas de realización o ninguna forma de realización particular, sino que debe interpretarse en referencia a las reivindicaciones adjuntas de manera de proporcionar la interpretación más amplia posible de dichas reivindicaciones teniendo en cuenta el arte previo y, por lo tanto, para abarcar en forma eficaz el alcance previsto abarcado por la presente invención.