

REIVINDICACIONES

1. Un vector que comprende una secuencia nucleotídica CD8 α que codifica un polipéptido de CD8 α , una secuencia nucleotídica CD8 β que codifica un polipéptido de CD8 β , una secuencia nucleotídica de receptor de linfocito T (TCR) α que codifica un polipéptido de TCR α , y una secuencia nucleotídica TCR β que codifica un polipéptido de TCR β , en el cual las secuencias nucleotídicas están dispuestas en una orientación 5' a 3' de CD8 β -CD8 α -TCR β -TCR α .
2. El vector de la reivindicación 1, en el cual el polipéptido de CD8 α comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos del polipéptido CD8 α como se comprende en la SEQ ID NO 11 y el polipéptido de CD8 β comprende o consiste la secuencia de aminoácidos del polipéptido CD8 β como se comprende en la SEQ ID NO 12.
3. El vector las reivindicaciones 1 o 2, en el cual el polipéptido de TCR α y el polipéptido de TCR β comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos del polipéptido TCR α y del polipéptido TCR β , respectivamente, tal como se comprenden en la SEQ ID NO 13 y la SEQ ID NO 14, respectivamente.
4. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 que además comprende una secuencia nucleotídica, que codifica un péptido 2A, y una secuencia nucleotídica, que codifica un péptido conector, en donde la secuencia de nucleótidos que codifica dicho péptido 2A y péptido conector están ubicadas entre las secuencias de nucleótidos CD8 α y CD8 β , CD8 α y TCR β , y/o TCR α y TCR β .
5. El vector de la reivindicación 4, en el cual el péptido 2A se selecciona entre P2A (SEQ ID NO 3), T2A (SEQ ID NO 4), E2A (SEQ ID NO 5) y F2A (SEQ ID NO 6).
6. El vector de la reivindicación 5, en el cual el péptido conector es GSG o SGSG (SEQ ID NO 8).
7. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que además comprende una secuencia nucleotídica, que codifica un péptido del sitio de escisión para la furina (SEQ ID NO 2), en el cual la secuencia de nucleótidos que codifica dicho péptido del sitio de escisión de furina está ubicada entre las secuencias de nucleótidos CD8 α y CD8 β , CD8 α y TCR β , y/o TCR α y TCR β .

8. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que además comprende una secuencia de un elemento regulador postranscripcional (PRE) seleccionado entre un PRE del virus de la hepatitis de la marmota (WPRE) y un PRE del virus de la hepatitis B/VHB (HPRE).
9. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 que además comprende una secuencia promotora que controla la transcripción de las secuencias de nucleótidos definidas en las reivindicaciones 1 a 8, en que la secuencia promotora es seleccionada entre un promotor de citomegalovirus (CMV), promotor de la fosfoglicerato-cinasa (PGK), promotor de la proteína básica de la mielina (MBP), promotor de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), potenciador del virus del sarcoma mieloproliferativo portador de LTR MoMuLV modificado (MNDU3), promotor de la ubiquitina C, promotor de EF-1 α y promotor del virus de las células madre murinas (MSCV).
10. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicho vector es un vector vírico seleccionado entre adenovirus, poxvirus, alfavirus, arenavirus, flavivirus, rhabdovirus, retrovirus, lentivirus, herpesvirus, paramixovirus y picornavirus.
11. El vector de la reivindicación 10, el cual es un vector pseudotipado con una proteína de la envoltura de un virus seleccionado entre el virus endógeno felino nativo (RD114), una versión quimérica de la RD114 (RD114TR), virus de la leucemia del gibón (GaLV), una versión quimérica de la GaLV (GaLV-TR), virus anfotrópico de la leucemia murina (MLV 4070A), baculovirus (GP64), virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), virus de la gripe aviar (FPV), virus del ébola (EboV), y virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) o glucoproteína de la envoltura del retrovirus del papión (BaEV).
12. Un método *in vitro* para preparar linfocitos T, en donde dicho método comprende:
activar linfocitos T aislados en presencia de un aminobisfosfonato, en donde dicho aminobisfosfonato comprende ácido zoledrónico o en presencia de un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28,
transducir de los linfocitos T activados con el vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, y
expandir de los linfocitos T transducidos.

13. El método de la reivindicación 12, en el que los linfocitos T se aíslan de una muestra de leucocitaféresis humana.
14. El método de la reivindicación 12 o 13, en el que el aminobisfosfonato además comprende ácido pamidrónico, ácido alendrónico, ácido risedrónico, ácido ibandrónico, ácido incadrónico, una sal de cualquiera de los anteriores y/o un hidrato de los mismos.
15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el cual la activación se lleva a cabo, además, en presencia de interleucina 2 (IL-2) recombinante humana y/o de interleucina 15 (IL-15) recombinante humana.
16. El método de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, en el que la expansión se produce en presencia de IL-2 y/o IL-15.
17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, en el que los linfocitos T comprenden linfocitos T $\alpha\beta$, linfocitos T $\gamma\delta$, y/o linfocitos T citolíticos naturales (NK).
18. El método de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 17, en el que el polipéptido CD8 α , el polipéptido CD8 β , el polipéptido TCR α y el polipéptido TCR β se coexpresan en la superficie de las células T expandidas.
19. Una población de linfocitos T expandidos preparada con el método de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 18.
20. Una composición que comprende la población de linfocitos T expandidos de la reivindicación 19,
 en la cual los linfocitos T son capaces de destruir las células cancerosas en cuya superficie se presenta un péptido formando un complejo con una molécula del MHC, péptido que es seleccionado entre cualquiera de las SEQ ID NOs: 98 a 255,
 en donde el cáncer es seleccionado entre el grupo consistente en cáncer de pulmón amicrocítico, cáncer de pulmón microcítico, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de útero, carcinoma de células de Merkel, cáncer de páncreas, cáncer de vesícula biliar, cáncer de las vías biliares, cáncer colorrectal, cáncer de la vejiga urinaria, cáncer de riñón,

leucemia, cáncer de ovario, cáncer de esófago, cáncer de cerebro, cáncer gástrico y cáncer de próstata.

21. La composición de la reivindicación 20, en la cual la composición comprende además un adyuvante.

22. La composición de la reivindicación 21, en la cual el adyuvante es seleccionado entre un anticuerpo anti-CD40, imiquimod, resiquimod, GM-CSF, ciclofosfamida, sunitinib, bevacizumab, atezolizumab, interferón- α , interferón- β , oligonucleótidos CpG y derivados, poli-(I:C) y derivados, ARN, sildenafil, formulaciones particuladas con poli(láctido co-glicólido) (PLG), virosomas, interleucinas (IL)-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21 o IL-23.

23. Un método *in vitro* para preparar linfocitos T, el cual comprende:
activar los linfocitos T,
transducir los linfocitos T activados con el vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11,
en el cual el vector es pseudotipado con una proteína de la envoltura del VSV-G, y
expandir los linfocitos T transducidos.

24. El método de la reivindicación 23, en el que los linfocitos T comprenden linfocitos T $\alpha\beta$, linfocitos T $\gamma\delta$ y/o linfocitos T citolíticos naturales (NKT).

25. El método de la reivindicación 23 o 24, en el que la activación se realiza en presencia de una estatina.

26. El método de la reivindicación 25, en el cual la estatina es seleccionada entre atorvastatina, cerivastatina, dalvastatina, fluindostatina, fluvastatina, mevastatina, pravastatina, simvastatina, velostatina o rosuvastatina.

27. El método de la reivindicación 23 o 24, en el que los linfocitos T comprenden linfocitos T $\alpha\beta$.

28. El método de la reivindicación 27, en el que la activación se produce en presencia de un anticuerpo anti-CD3 y de un anticuerpo anti-CD28.

2021/38182
Reivindicaciones modificadas en respuesta oficio 20216
Marzo 31, 2025

29. El método de las reivindicaciones 27 o 28, en el que la expansión se produce en presencia de IL-7 e IL-15.

30. Una población de linfocitos T expandidos preparada con el método de cualquiera de las reivindicaciones 23 a 29.