

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 876 235**

51 Int. Cl.:

<b>C12N 15/867</b>	(2006.01)	<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>C07K 14/715</b>	(2006.01)	<b>C12N 5/0783</b>	(2010.01)
<b>C07K 14/725</b>	(2006.01)		
<b>C07K 14/73</b>	(2006.01)		
<b>C07K 14/705</b>	(2006.01)		
<b>C07K 14/54</b>	(2006.01)		
<b>C12N 5/078</b>	(2010.01)		
<b>C07K 19/00</b>	(2006.01)		
<b>A61K 38/00</b>	(2006.01)		
<b>A61K 35/17</b>	(2015.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.09.2015 PCT/US2015/051280**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.03.2016 WO16044853**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.09.2015 E 15842405 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.03.2021 EP 3200591**

54 Título: **Linfocitos T de memoria central para la terapia adoptiva de linfocitos T**

30 Prioridad:

**19.09.2014 US 201462053068 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**12.11.2021**

73 Titular/es:

**CITY OF HOPE (100.0%)  
1500 East Duarte Road  
Duarte, CA 91010-3000, US**

72 Inventor/es:

**BROWN, CHRISTINE E. y  
FORMAN, STEPHEN J.**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 876 235 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Linfocitos T de memoria central para la terapia adoptiva de linfocitos T

Antecedentes

5 Se han investigado inmunoterapias basadas en linfocitos T específicos de tumor, que incluyen terapias que emplean linfocitos T manipulados, para el tratamiento antitumoral. En algunos casos, los linfocitos T usados en dichas terapias no siguen activos *in vivo* durante un periodo suficiente. En algunos casos, la especificidad de tumor de los linfocitos T es relativamente baja. Por tanto, existe la necesidad en la materia de terapias contra el cáncer específicas de tumor con funcionamiento antitumoral a largo plazo.

10 La terapia adoptiva de linfocitos T (ACT) utilizando linfocitos T manipulados de receptor de antígeno quimérico (CAR) puede proporcionar una forma segura y eficaz para reducir las tasas de reaparición de GM, puesto que los linfocitos T de CAR se pueden manipular para reconocer específicamente poblaciones de tumores antigénicamente distintas (Cartellieri et al. 2010 J Biomed Biotechnol 2010:956304; Ahmed et al. 2010 Clin Cancer Res 16:474; Sampson et al. 2014 Clin Cancer Res 20:972; Brown et al. 2013 Clin Cancer Res 2012 18:2199; Chow et al. 2013 Mol Ther 21:629), y los linfocitos T pueden migrar a través del parénquima cerebral para dirigirse a y destruir células malignas infiltrantes (Hong et al. 2010 Clin Cancer Res 16:4892; Brown et al. 2007 J Immunol 179:3332; Hong et al. 2010 Clin Cancer Res 16:4892; Yaghoubi 2009 Nat Clin Pract Oncol 6:53). Estudios preclínicos han demostrado que los linfocitos T de CAR+ que se dirigen a IL13R $\alpha$ 2 presentan potente actividad citolítica específica de IL13R $\alpha$ 2 independiente del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) contra tanto células de tipo células madre como células de glioma diferenciadas, e inducen la regresión de los xenoinjertos *in vivo* de glioma establecidos (Kahlon et al. 2004 Cancer Res 64:9160; Brown et al. 2012 Clin Cancer Res 18:2199).

25 El documento WO 2012/129514 A1 describe métodos y composiciones para conferir y/o aumentar las respuestas inmunitarias mediadas por inmunoterapia celular, por ejemplo, transfiriendo de forma adoptiva linfocitos T CD8+ específicos del tumor modificados genéticamente en presencia de linfocitos T CD4+ modificados genéticamente específicos de un subgrupo y específicos del tumor, en donde los linfocitos T CD4+ confieren y/o aumentan la capacidad de los linfocitos T CD8+ para sostener la reactividad antitumoral e incrementan y/o maximizan la proliferación específica del tumor de los linfocitos T CD8+ de interés específicos del tumor.

El documento WO 2007/071053 describe métodos, usos, productos y kits relacionados con la monitorización, evaluación y modulación de la función inmunitaria y, más concretamente, la función de linfocitos T de memoria.

Sumario

30 La presente invención se define por las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes representan realizaciones adicionales de la invención.

35 En el presente documento se describen poblaciones de células que comprenden linfocitos T de memoria central (Tcm). Las poblaciones de células incluyen tanto linfocitos T CD4+ como linfocitos T CD8+. Las células en las poblaciones de células son útiles para expresar inmunorreceptores de transmembrana quiméricos (receptores de antígeno quimérico o "CARs") que comprenden un dominio extracelular (por ejemplo, un scFv que se une a una diana seleccionada), una región transmembrana y un dominio de señalización intracelular, por ejemplo, un dominio intracelular que incluye el dominio de señalización de la cadena zeta del complejo CD3 humano (CD3 $\zeta$ ) y uno o más dominios coestimulantes, por ejemplo, un dominio coestimulante 4-1BB. El dominio extracelular permite que CAR, cuando se expresa sobre la superficie de un linfocito T, dirija la actividad de linfocitos T a las células que expresan una diana reconocida por el dominio extracelular. La inclusión de un dominio coestimulante, tal como el dominio coestimulante 4-1BB (CD137) en series con CD3 $\zeta$  en la región intracelular permite que el linfocito T reciba señales coestimulantes.

45 Las células Tcm descritas en el presente documento, por ejemplo, células Tcm alogénicas o autólogas específicas del paciente se pueden modificar para que expresen un CAR deseado y las células modificadas se pueden expandir y utilizar en ACT. La población de células T<sub>CM</sub> son CD45RO+CD62L e incluyen células CD4+ y CD8+.

50 En diversas realizaciones: la población de linfocitos T humanos comprende un vector que expresa un receptor de antígeno quimérico; la población de linfocitos T humanos de memoria central (células Tcm) comprende al menos 10 % de células CD4+ y al menos 10 % de células CD8+ (por ejemplo, al menos 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % de las células son células Tcm; al menos 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 % de las células Tcm son CD4+ y al menos 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 % de las células Tcm son células CD8+).

55 También se describe una composición para su uso en un método de tratamiento de cáncer en un paciente, comprendiendo el método administrar una población de linfocitos T humanos autólogos o alogénicos (por ejemplo, linfocitos T autólogos o alogénicos que comprenden células Tcm, por ejemplo, al menos 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % de las células son células Tcm; al menos 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 % de las células Tcm son CD4+ y al menos 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 % de las células Tcm son células CD8+) transducidos por un vector que comprende un casete de expresión que codifica un receptor de antígeno quimérico.

En el presente documento se describe una población de linfocitos T humanos transducidos con un vector que expresa un receptor de antígeno quimérico en donde al menos 50 % de los linfocitos T humanos transducidos son linfocitos T de memoria central. En diversas realizaciones: al menos 10 % de los linfocitos T de memoria central que son células transducidas son CD4+; al menos 10 % de los linfocitos T de memoria central transducidos son CD8+; al menos 15 % de los linfocitos T de memoria central son CD4+ y al menos 15 % son CD8+; y al menos 50 % de los linfocitos T humanos transducidos son CD4+/CD8+/CD62L+.

En el presente documento también se describe una población de linfocitos T humanos transducidos con un vector que expresa un receptor de antígeno quimérico en donde: al menos 50 % de los linfocitos T humanos transducidos son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra-, al menos 10 % de las células son CD4+ y al menos 10 % de las células son CD4+. En diversas realizaciones: al menos 10 % de las células que son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra- también son CD4+ y al menos 10 % de las células que son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra- también son CD8+; y al menos 15 % de las células que son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra- también son CD4+ y al menos 15 % de las células que son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra- también son CD4+.

También se describe una composición para su uso en un método de tratamiento de cáncer, comprendiendo el método administrar a un paciente que lo necesite una composición farmacéutica que comprende los linfocitos T de memoria central descritos en el presente documento. Los linfocitos T pueden ser autólogos para el paciente o son alogénicos para el paciente.

También se describe un método para preparar una población de linfocitos T de memoria central que comprende: obtener una población de linfocitos T a partir de un sujeto humano; agotar la población de linfocitos T en células que expresan CD25, células que expresan CD14 y células que expresan CD45+ para preparar una población de linfocitos T agotados; enriquecer la población de linfocitos T agotados en células que expresan CD62L, con lo que se prepara de este modo una población de linfocitos T de memoria central, en donde el método no comprende una etapa de agotamiento de una población celular en células que expresan CD4+ y no comprende una etapa de agotamiento de una población celular en células que expresan CD8+. En diversas realizaciones: al menos 50 % (por ejemplo, al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 95 %) de las células en la población de linfocitos T de memoria central son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra-, al menos 10 % de las células son CD4+ y al menos 10 % de las células son CD4+; al menos 50 % (por ejemplo, al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 95 %) de las células en la población de linfocitos T de memoria central son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra-, al menos 15 % de las células son CD4+ y al menos 15 % de las células son CD4+; al menos 50 % de las células en la población de linfocitos T de memoria central son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra-, al menos 20 % (por ejemplo, al menos 30 %, 40 % o 50 %) de las células son CD4+ y al menos 20 % (por ejemplo, al menos 30 %, 40 % o 50 %) de las células son CD4+. El método puede comprender además estimular la población de linfocitos T de memoria central (por ejemplo, poniendo en contacto la población de linfocitos T de memoria central con CD3 y/o CD28); puede comprender transducir las células con un vector que exprese una proteína recombinante para crear una población de linfocitos T de memoria central modificados genéticamente; y puede comprender expandir la población de linfocitos T de memoria central modificados genéticamente (por ejemplo, expandir la población de linfocitos T de memoria central modificados genéticamente exponiendo las células a una de entre IL-2 e IL-15 o ambas).

#### Descripción de dibujos

La **Figura 1** es una representación esquemática de CAR de IL13(E13Y)-zetakina (izquierda) compuesto de la variante de IL-13 humana específica de IL13R $\alpha$ 2 (huLL-13(E13Y)), espaciador de Fc de IgG4 humana (hu $\gamma$ 4Fc), transmembrana CD4 humana (huCD4 tm) y porciones citoplásmicas de la cadena CD3 $\zeta$  humana (huCD3 $\zeta$  cit) como se indica. También se representa un CAR de IL13(EQ)BB $\zeta$  que es el mismo que IL13(E13Y)-zetakina con la excepción de las dos mutaciones puntuales, L235E y N297Q indicadas en rojo, que se sitúan en el dominio CH2 del espaciador de IgG4, y la adición de un dominio citoplásmico coestimulante 4-1BB (4-1BB cit).

Las **Figuras 2A-C** representan ciertos vectores y marcos de lectura abiertos. A es un diagrama del marco de lectura abierto de ADNc de la construcción IL13(EQ)BBZ-T2ACD19t de 2670 nucleótidos, donde se indican el ligando específico de IL13R $\alpha$ 2 IL13(E13Y), dominios de bisagra de Fc de IgG4(EQ), transmembrana CD4, de señalización citoplásmica de 4-1BB, de conector de tres glicinas y de señalización citoplásmica CD3 $\zeta$  del CAR de IL13(EQ)BBZ, así como las secuencias de salto de ribosoma T2A y de CD19 truncado. También se indican el receptor alfa de GM-CSF humano y las secuencias señal de CD19 que conducen la expresión superficial del CAR de IL13(EQ)BB $\zeta$  y CD19t. B es un diagrama de las secuencias flanqueadas por repeticiones terminales largas (indicadas por 'R') que se integrarán en el genoma hospedador. C es un mapa del plásmido IL13(EQ)BBZ-T2A-CD19t\_epHIV7.

La **Figura 3** representa la construcción de pHIV7.

La **Figura 4** representa los elementos de pHIV7.

La **Figura 5** representa un esquema de producción para T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+.

Las **Figuras 6A-C** representan los resultados del análisis de citometría de flujo de la expresión de marcadores de transgenes superficiales y de linfocitos T. Se co-tiñeron T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ HD006.5 y HD187.1 con anti-IL13-PE y anti-CD8-FITC para detectar células de CAR+ CD8+ y CAR+ CD4+ (es decir, CD8 negativas) (A), o anti-CD19-

PE y anti-CD4-FITC para detectar células CAR+ CD4+ CD19t+ y CD8+ (es decir, CD4 negativas) (**B**). Se tiñeron T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ/CD19t+ HD006.5 y HD187.1 con anti-CD3, TCR, CD4, CD8, CD62L y CD28 conjugados con fluorocromo (histogramas grises) o controles de isotipo (histogramas negros) (C). En todos los casos los porcentajes basados en linfocitos viables (DAPI negativo) tiñeron el isotipo anterior.

5 Las **Figuras 7A-B** representan la caracterización funcional *in vitro* de la función efectora específica de IL13Rα2 de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBZ+. Se usaron T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBZ/CD19t+ HD006.5 y HD187.1 como efectores en un ensayo de liberación de <sup>51</sup>Cr de 6 horas usando una relación 10:1 de E:D basada en la expresión de CD19t. Se manipularon con K562 las dianas de tumor IL13Rα2-positivas para expresar IL13Rα2 (K562-IL13Rα2) y la línea de glioma primario PBT030-2, y el control de dianas de tumor IL13Rα2-negativas fue la línea parental K562 (**A**). Se evaluaron  
10 T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBZ/CD19t+ HD006.5 y HD187.1 para la producción de citocinas dependientes de antígeno siguiendo el cultivo durante la noche a una relación 10:1 de E:D con dianas IL13Rα2-positivas y negativas. Se midieron los niveles de citocinas usando el kit de ensayo de citocinas humanas TH1/TH2 de Bio-Plex Pro y se informan INF-γ (**B**).

15 Las **Figuras 8A-C** representan el resultado de estudios que demuestran la regresión de xenoinjertos de tumor de glioma establecidos después de la transferencia adoptiva de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ/CD19t+. Se implantaron estereotácticamente células tumorales PBT030-2 EGFP-ffLuc+ (1×10<sup>5</sup>) en el prosencéfalo derecho de ratones NSG. En el día 5, los ratones recibieron o bien 2×10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ/CD19t+ (1,1×10<sup>6</sup> CAR+; n=6), 2×10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> simuladas (sin CAR; n=6) o bien PBS (n=6). Ratones representativos de cada grupo que muestran carga tumoral relativa usando Xenogen Living Imagen (**A**). La cuantificación de flujo de ffLuc (fotones/s) muestra que T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ/CD19t+ induce la regresión tumoral en comparación con T<sub>CM</sub> transducidas con vector vacío y PBS  
20 (#p<0,02, \*p<0,001, ANOVA de medidas repetidas) (**B**). Curva de supervivencia de Kaplan Meier (n=6 por grupo) que demuestra supervivencia significativamente mejorada (p=0,0008; prueba del orden logarítmico) para ratones tratados con T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ/CD19t+ (**C**).

25 Las **Figuras 9A-C** representan los resultados de estudios que comparan la eficacia antitumoral de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBZ y clones de CTL IL13-zetakina. Se implantaron estereotácticamente TSs de PBT030-2 EGFP-ffLuc+ (1×10<sup>5</sup>) en el prosencéfalo derecho de ratones NSG. En el día 8, los ratones recibieron o bien 1,6×10<sup>6</sup> de T<sub>CM</sub> simuladas (sin CAR), 1,0×10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> CAR+ IL13(EQ)BBζ (1,6×10<sup>6</sup> linfocitos T totales; 63 % CAR), 1,0×10<sup>6</sup> CTL CD8+ IL13-zetakina cl. 2D7 (CAR+ clonal), o sin tratamiento (n=6 por grupo). Ratones representativos de cada grupo que muestran carga tumoral relativa usando Xenogen Living Imagen (**A**). Líneas de regresión lineal del logaritmo natural del flujo de ffLuc (fotones/s) con el tiempo, los valores de p son para el grupo por comparaciones de interacción temporal (**B**). Los  
30 análisis de supervivencia de Kaplan Meier (n= 6 por grupo) demuestran supervivencia significativamente mejorada (p=0,02; prueba del orden logarítmico) para ratones tratados con T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ en comparación con CTL CD8+ IL13-zetakina cl. 2D7 (**C**).

35 Las **Figuras 10A-C** representan los resultados de estudios que comparan la eficacia antitumoral de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ y clones de CTL IL13-zetakina. Se implantaron estereotácticamente TSs de PBT030-2 EGFP-ffLuc+ (1×10<sup>5</sup>) en el prosencéfalo derecho de ratones NSG. En el día 8, los ratones recibieron o bien 1,3×10<sup>6</sup> de T<sub>CM</sub> simuladas (sin CAR; n=6), 1,0, 0,3 o 0,1×10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> CAR+ IL13(EQ)BBζ (78 % de CAR+; n=6-7), 1,0, 0,3 o 0,1×10<sup>6</sup> CTL CD8+ IL13-zetakina cl. 2D7 (CAR+ clonal; n=6-7), o sin tratamiento (n=5). Obtención de imágenes xenógenas de ratones representativos de cada grupo que muestran carga tumoral relativa (**A**). Las líneas de regresión lineal del logaritmo natural del flujo de ffLuc (fotones/s) muestran que T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ logra regresión tumoral superior en  
40 comparación con CTL IL13-zetakina cl. 2D7 de primera generación, T<sub>CM</sub> simuladas y tumor solo (**B**). Flujo promedio por grupo en el día 27 después de la inyección tumoral que demuestra que la dosis de 0,1×10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ supera la dosis de 1,0×10<sup>6</sup> diez veces mayor de CTL CD8+ IL13-zetakina cl. 2D7 (p = 0,043; prueba de la t de Welch de dos muestras) (**C**).

45 La **Figura 11** representa los resultados de estudios que demuestran que T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ muestran persistencia mejorada en comparación con clones de CTL IL13-zetakina. La inmunohistoquímica de CD3 evalúa la persistencia de linfocitos T en el sitio tumoral 7 días después de la infusión de linfocitos T. Se detectan números significativos de linfocitos T para T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ (panel superior). Por el contrario, se detectan muy pocos linfocitos T CD3+ IL13-zetakina viables (panel inferior).

50 Las **Figuras 12A-D** representan los resultados de experimentos que comparan la vía de administración de linfocitos T de CAR+ (i.c. frente a i.v.) para grandes tumores establecidos. Se implantaron TSs de PBT030-2 EGFP-ffLuc+ (1×10<sup>5</sup>) en el prosencéfalo derecho de ratones NSG. En los días 19 y 26, los ratones se inyectaron i.v. a través de la vena de la cola con o bien 5×10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> de CAR+ IL13(EQ)BBζ+ (11,8×10<sup>6</sup> células totales; n=4), o T<sub>CM</sub> simuladas (11,8×10<sup>6</sup> células; n=4). Alternativamente, en los días 19, 22, 26 y 29, los ratones se inyectaron i.c. con o bien 1×10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> de CAR+ IL13(EQ)BBζ+ (2,4×10<sup>6</sup> células totales; n=4), o T<sub>CM</sub> simuladas (2,4×10<sup>6</sup> células; n=5). El flujo de ffLuc promedio (fotones/s) con el tiempo muestra que T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ administrados i.c. median en la regresión tumoral  
55 de tumores de día 19. Por comparación, linfocitos T administrados i.v. no muestran reducción en la carga tumoral en comparación con los controles de T<sub>CM</sub> no tratados o simuladas (**A**). La curva de supervivencia de Kaplan Meier demuestra la mejorada supervivencia para ratones tratados con T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBZ i.c. en comparación con ratones tratados con T<sub>CM</sub> de CAR+ administrados i.v. (p = 0,0003, prueba del rango logarítmico) (**B**). H&E representativa y IHC de CD3 de ratones tratados i.v. (**C**) frente a i.c. (**D**) con T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBZ+. Solo se detectaron linfocitos T  
60

CD3+ en el grupo tratado i.c., sin detectarse células CD3+ en el tumor o parénquima cerebral circundante para ratones tratados i.v.

Las **Figuras 13A-B** representan los resultados de estudios que muestran que el linfocito T de CAR+ inyectado intracranalmente, bien intratumoral (i.c.t.) o intraventricular (i.c.v.), puede circular a tumores en el hemisferio opuesto. Se implantaron estereotácticamente TSs de PBT030-2 EGFP-ffLuc+ ( $1 \times 10^5$ ) en los prosencéfalos derecho e izquierdo de ratones NSG. En el día 6, los ratones se inyectaron i.c. en el sitio tumoral derecho con  $1,0 \times 10^6$  Tcm IL13(EQ)BBζ+ ( $1,6 \times 10^6$  células totales; 63 % CAR; n=4). Esquema del modelo experimental de glioma multifocal (**A**). IHC de CD3 que muestra la infiltración de linfocitos T tanto en los sitios tumorales derechos como izquierdos (**B**).

10 La **Figura 14** representa la secuencia de aminoácidos de IL13(EQ)BBζ/CD19t+ (SEQ ID NO: 10).

La **Figura 15** representa una comparación de secuencias de IL13(EQ)41BBζ[IL13(EQ)41BBζ T2A-CD19t\_epHIV7; pF02630] (SEQ ID NO: 12) y CD19Rop\_epHIV7 (pJ01683) (SEQ ID NO: 13).

#### Descripción detallada

15 A continuación se describe una población de células T<sub>CM</sub> que incluye células CD4+ y células CD8+ (población de células "T<sub>CM</sub> de CD4+/CD8+"). Las células de la población de células T<sub>CM</sub> de CD4+/CD8+ se pueden activar con anti-CD3/CD28 y se pueden transducir con, por ejemplo, un vector lentiviral SIN que dirige la expresión de un CAR para crear células modificadas genéticamente. Las células activadas/modificadas genéticamente se pueden expandir in vitro con IL-2/IL-15 y a continuación se pueden utilizar o conservar criológicamente y utilizarlas más tarde. Se describe un ejemplo del uso de una población de células T<sub>CM</sub> de CD4+/CD8+ para expresar un CAR dirigido a IL13Rα2.

20 El CAR utilizado en los ejemplos a continuación se denomina IL13(EQ)BBζ. Este CAR incluye una variedad de características importantes que incluyen: un ligando de IL13α2 que tiene un cambio de aminoácido que mejora la especificidad de unión a IL13α2; el dominio de CD137 (4-1BB) en serie con CD3ζ para proporcionar coestimulación beneficiosa; y una región Fc de IgG4 que está mutada en dos sitios dentro de la región CH2 (L235E; N297Q) de un modo que reduce la unión por receptores de Fc (FcRs). Este CAR y otros se pueden producir usando un vector en el que el marco de lectura abierto del CAR va seguido por una secuencia de salto de ribosoma T2A y un CD19 truncado (CD19t), que carece de la cola de señalización citoplásmica (truncada en el aminoácido 323). En esta disposición, la co-expresión de CD19t proporciona un marcador superficial inerte no inmunogénico que permite la precisa medición de células modificadas por genes, y permite la selección positiva de células modificadas por genes, así como el eficiente tráfico de células y/u obtención de imágenes de los linfocitos T terapéuticos *in vivo* siguiendo transferencia adoptiva. La co-expresión de CD19t proporciona un marcador para el direccionamiento inmunológico de las células transducidas *in vivo* usando anticuerpos y/o reactivos de inmunotoxina clínicamente disponibles para deleccionar selectivamente las células terapéuticas, y así funcionar como un cambio suicida.

35 Los gliomas expresan receptores de IL13, y en particular, receptores de IL13 alta afinidad. Sin embargo, a diferencia del receptor de IL13, las células de glioma expresan en exceso una cadena de IL13Rα2 única capaz de unirse a IL13 independientemente del requisito para IL4Rβ o γc44. Al igual que su IL4 homólogo, IL13 tiene actividad inmunorreguladora pleotrópica fuera del SNC. Tanto IL13 como IL4 estimulan la producción de IgE por linfocitos B y suprimen la producción pro-inflamatoria de citocinas por macrófagos.

40 Estudios detallados usando autorradiografía con IL13 radiomarcada han demostrado la abundante unión de IL13 en casi todos los tejidos malignos de glioma estudiados. Esta unión es altamente homogénea dentro de secciones tumorales y en el análisis de células individuales. Sin embargo, el análisis con sonda molecular específico para ARNm de IL13Rα2 no detectó la expresión del receptor específico de glioma por elementos cerebrales normales y la autorradiografía con IL13 radiomarcada tampoco pudo detectar la unión de IL13 específica en el SNC normal. Estos estudios sugieren que el receptor de IL13Rα1/IL4β/γc compartido no se expresa detectablemente en el SNC normal. Por tanto, IL13Rα2 es una diana de la superficie celular muy específica y es una diana adecuada para un CAR diseñado para el tratamiento de un glioma.

50 La unión de moléculas terapéuticas basadas en IL13 al complejo de receptor IL13Rα1/IL4β/γc ampliamente expresado, sin embargo, tiene el potencial de mediar en toxicidades no deseadas a tejidos normales fuera del SNC, y así limita la administración sistémica de estos agentes. Una sustitución de aminoácidos en la hélice A de IL13-alfa en el aminoácido 13 de tirosina por el ácido glutámico nativo reduce selectivamente la afinidad de IL13 en el receptor IL13Rα1/IL4β/γc. La unión de este mutante (denominado IL13(E13Y)) a IL13Rα2, sin embargo, aumentó con respecto a IL13 no mutante. Así, este análogo de IL13 mínimamente alterado aumenta simultáneamente la especificidad y afinidad de IL13 por células de glioma. Por tanto, los CAR descritos en el presente documento incluyen una IL13 que contiene una mutación (E a Y o E a algún otro aminoácido tal como K o R o L o V) en el aminoácido 13 (según la numeración de Debinski et al. 1999 Clin Cancer Res 5:3143s). También se puede usar la IL13 que tiene la secuencia natural, sin embargo, y puede ser útil, particularmente en situaciones donde los linfocitos T modificados son localmente administrados, tal como por inyección directamente en una masa tumoral.

Los CAR descritos en el presente documento se pueden producir mediante cualquier medio conocido en la técnica, aunque preferentemente se producen usando técnicas de ADN recombinante. Se pueden preparar y ensamblar los ácidos nucleicos que codifican las diversas regiones del receptor quimérico en una secuencia codificante completa por técnicas convencionales de clonación molecular conocidas en la técnica (cribado de bibliotecas genómicas, PCR, ligación asistida por cebador, mutagénesis dirigida al sitio, etc.), según sea conveniente. La región codificante resultante se inserta preferentemente en un vector de expresión y se usa para transformar una línea de células hospedadoras de expresión adecuada, preferentemente una línea celular de linfocitos T, y lo más preferentemente una línea celular de linfocitos T autólogos.

### Ejemplo 1: Construcción y estructura de un CAR específico de IL13Rα2

Se describe a continuación la estructura de un CAR específico de IL13Rα2 útil. La secuencia de CAR de codón optimizado contiene un ligando de IL-13 unido a membrana mutado en un único sitio (E13Y) para reducir la posible unión a IL13Rα1, un espaciador de Fc de IgG4 que contiene dos mutaciones (L235E; N297Q) que reducen enormemente los modelos de reconocimiento mediados por receptor de Fc, un dominio transmembrana CD4, un dominio de señalización citoplásmica coestimulante 4-1BB y un dominio de señalización citoplásmica CD3ζ. Una secuencia de salto de ribosoma T2A separa esta secuencia de CAR de IL13(EQ)BBζ de CD19t, un marcador de detección/selección de la superficie celular inerte no inmunogénico. Este enlace de T2A da como resultado la expresión coordinada de tanto IL13(EQ)BBζ como CD19t a partir de un único transcrito. La **Figura 1A** es un dibujo esquemático del marco de lectura abierto de 2670 nucleótidos que codifica la construcción IL13(EQ)BBZ-T2ACD19t. En este dibujo, el ligando específico de IL13Rα2 IL13(E13Y), dominios Fc de IgG4(EQ), transmembrana CD4, de señalización citoplásmica 4-1BB, de conector de tres glicinas y de señalización citoplásmica CD3ζ de CAR de IL13(EQ)BBZ, así como las secuencias de salto de ribosoma T2A y de CD19 truncado están todos indicados. También se indican el receptor alfa humano de GM-CSF y las secuencias señal de CD19 que conducen la expresión superficial de CAR de IL13(EQ)BBZ y CD19t. Así, la construcción IL13(EQ)BBZ-T2ACD19t incluye una secuencia de inmunorreceptor quimérico coestimulante optimizado en la bisagra específica de IL13Rα2 (designada IL13(EQ)BBZ), una secuencia de salto de ribosoma T2A y una secuencia de CD19t.

Se generó la secuencia de IL13(EQ)BBZ por fusión del péptido conductor alfa del receptor humano de GM-CSF con el ligando 5 de IL13(E13Y) bisagra de Fc de IgG4 modificada con L235E/N297Q (donde la mutación doble interfiere con el reconocimiento de FcR), transmembrana CD4, dominio de señalización citoplásmica 4-1BB y secuencias del dominio de señalización citoplásmica CD3ζ. Esta secuencia se sintetizó de novo después de la optimización de codón. Se obtuvo la secuencia de T2A de la digestión de un plásmido que contiene T2A. Se obtuvo la secuencia de CD19t a partir de la que abarca desde la secuencia de péptidos conductores hasta los componentes transmembrana (es decir, los pares de bases 1-972) de un plásmido que contiene CD19. Se cloraron los tres fragmentos, 1) IL13(EQ)BBZ, 2) T2A, y 3) CD19t, en el sitio de clonación múltiple del vector lentiviral epHIV7. Cuando se transfectaron en células apropiadas, el vector integra la secuencia representada esquemáticamente en la **Figura 1B** en el genoma de células hospedadoras. La **Figura 1C** proporciona un dibujo esquemático del propio plásmido IL13(EQ)BBZ-T2A-CD19t\_epHIV7 de 9515 pares de bases.

Como se muestra esquemáticamente en la **Figura 2**, CAR de IL13(EQ)BBZ se diferencia en varios aspectos importantes de un CAR específico de IL13Rα2 previamente descrito denominado IL13(E13Y)-zetakina (Brown et al. 2012 Clinical Cancer Research 18:2199). IL13(E13Y)-zetakina está compuesto por la muteína de IL-13 humana específica de IL13Rα2 (huIL-13(E13Y)), espaciador de Fc de IgG4 humana (huγ4Fc), las porciones transmembrana CD4 humana (huCD4 tm) y de cadena citoplásmica humana CD3ζ (huCD3ζ cit) como se indica. A diferencia, IL13(EQ)BBZ tiene dos mutaciones puntuales, L235E y N297Q, que se sitúan en el dominio de CH2 del espaciador de IgG4, y un dominio citoplásmico coestimulante 4-1BB (4-1BB cit).

### Ejemplo 2: Construcción y estructura de epHIV7 usado para la expresión de un CAR específico de IL13Rα2

El plásmido pHIV7 es el plásmido original del que derivó el vector clínico IL13(EQ)BBZ-T2A-CD19t\_epHIV7 en el Laboratorio de Investigación Terapéutica de Linfocitos T (TCTRL) en City of Hope (COH). El vector epHIV7 usado para la expresión del CAR se produjo a partir del vector pHIV7. Y, lo que es más importante, este vector usa el promotor EF1 humano para conducir la expresión del CAR. Tanto las secuencias de 5' como de 3' del vector derivaron de pv653RSN, ya que previamente derivaron del provirus HXBc2. Las secuencias de flap de ADN del tramo de polipurina (cPPT) derivaron de la cepa pNL4-3 de HIV-1 del NIH AIDS Reagent Repository. Se describió previamente la secuencia del elemento regulador post-transcripcional (WPRE) de la marmota.

La construcción de pHIV7 se representa esquemáticamente en la Figura 3. Brevemente, se subclonó pv653RSN, que contiene 653 pb de gag-pol más repeticiones terminales largas (LTRs) de 5' y 3' con un gen de SL3-neomicina fosfotransferasa (Neo) intermedio, en pBluescript, del siguiente modo: En la etapa 1, las secuencias de 5' LTR para el elemento sensible a rev (RRE) hicieron p5'HIV-1 51, y luego se modificó 5' LTR retirando secuencias en la dirección 5' de la caja TATA, y se ligó primero a un potenciador de CMV y luego al origen de replicación de SV40 (p5'HIV-2). En la etapa 2, después de la clonación de 3' LTR en pBluescript para producir p3'HIV-1, se hizo una delección de 400 pb en el potenciador/promotor de 3' LTR para retirar elementos reguladores en cis en HIV U3 y formar p3'HIV-2. En la etapa 3, se ligaron los fragmentos aislados de p5'HIV-3 y p3'HIV-2 para producir pHIV-3. En la etapa 4, p3'HIV-2 se modificó adicionalmente retirando adicionalmente secuencias de HIV en la dirección 5' para

generar p3'HIV-3 y se añadió un fragmento BamHI-Sall de 600 pb que contenía WPRE a p3'HIV-3 para producir p3'HIV-4. En la etapa 5, se redujo en tamaño por PCR pHIV-3 RRE y se ligó a un fragmento de 5' de pHIV-3 (no mostrado) y a p3'HIV-4, para producir pHIV-6. En la etapa 6, se amplificó a partir de pNL4-3 un fragmento de BgIII-BamHI de 190 pb que contenía la secuencia de flap de ADN cPPT de HIV-1 pNL4-3 (55) y se situó entre las secuencias de RRE y WPRE en pHIV6 para producir pHIV-7. Este plásmido original pHIV7-GFP (GFP, proteína verde fluorescente) se usó para encapsidar el vector original usando un sistema de cuatro plásmidos.

Se requiere una señal de encapsidación, psi  $\psi$ , para la eficiente encapsidación del genoma viral en el vector. RRE y WPRE potencian el transporte del transcrito de ARN y la expresión del transgén. Se demostró que la secuencia de flap, en combinación con WPRE, potencia la eficiencia de transducción del vector lentiviral en las células de mamífero.

Las funciones auxiliares, requeridas para la producción del vector viral), se dividen en tres plásmidos separados para reducir la probabilidad de generación de lentivirus competente en la replicación mediante recombinación: 1) pCgp codifica la proteína gag/pol requerida para el ensamblaje de vectores virales; 2) pCMV-Rev2 codifica la proteína Rev, que actúa sobre la secuencia de RRE para ayudar en el transporte del genoma viral para la eficiente encapsidación; y 3) pCMV-G codifica la glucoproteína del virus de la estomatitis vesicular (VSV), que se requiere para la infectividad del vector viral.

Existe una homología de secuencia de ADN mínima entre el genoma de vector codificado por pHIV7 y los plásmidos auxiliares. Las regiones de homología incluyen una región de la señal de encapsidación de aproximadamente 600 nucleótidos, situada en la secuencia de gag/pol del plásmido auxiliar pCgp; una secuencia del promotor del CMV en los tres plásmidos auxiliares; y una secuencia de RRE en el plásmido auxiliar pCgp. Es altamente poco probable que el virus recombinante competente en la replicación se pueda generar debido a la homología en estas regiones, ya que requeriría múltiples eventos de recombinación. Además, cualquier recombinante resultante perdería secuencias funcionales de LTR y tat requeridas para la replicación lentiviral.

Se sustituyó el promotor del CMV por el promotor EF1 $\alpha$ -HTLV (EF1p), y el nuevo plásmido se denominó epHIV7 (**Figura 4**). EF1p tiene 563 pb y se introdujo en epHIV7 usando NruI y NheI, después de escindir el promotor del CMV.

Se ha retirado de este sistema el genoma lentiviral, excluyendo gag/pol y rev que son necesarios para la patogenicidad del virus no mutante y se requiere para la infección productiva de células diana. Además, la construcción de vector IL13(EQ)BBZ-T2ACD19t\_epHIV7 no contiene un promotor intacto de 3'LTR, así el genoma proviral de ADN expresado y transcrito de forma inversa resultante en células dirigidas tendrá LTRs inactivas. Como resultado de este diseño, no se transcribirán secuencias derivadas de HIV-1 del provirus y solo se expresarán las secuencias terapéuticas a partir de sus promotores respectivos. Se espera que la retirada de la actividad del promotor de LTR en el vector SIN reduzca significativamente la posibilidad de activación accidental de genes hospedadores (56). La Tabla 4 resume los diversos elementos reguladores presentes en IL13(EQ)BBZ-T2ACD19t\_epHIV7.

**Tabla 4 Elementos funcionales de IL13(EQ)41BBZ-T2A-CD19t\_epHIV7**

Elementos y genes reguladores	Localización (números de nucleótidos)	Comentarios
U5	87-171	Secuencia única 5'
psi	233-345	Señal de encapsidación
RRE	957-1289	Elemento sensible a Rev
flap	1290-1466	Contiene la secuencia de rastreo de polipurina y la secuencia de terminación central para facilitar la importación nuclear del complejo de preintegración
Promotor EF1p	1524-2067	Secuencia del promotor eucariota EF1-alfa que conduce la expresión de CD19Rop
IL13-IgG4(EQ)-41BB-Zeta-T2A-CD19t	2084-4753	Inserto terapéutico
WPRE	4790-5390	Virus de la hepatitis de la marmota derivado del elemento regulador para potenciar el transporte de ARN viral
delU3	5405-5509	3' U3 con delección para generar el vector SIN

R	5510-5590	Secuencia de repetición dentro de LTR
U5	5591-5704	Secuencia 3' U5 en LTR
Amp <sup>R</sup>	6540-7398	Gen de resistencia a ampicilina
CoE1 ori	7461-8342	Origen de replicación de plásmido
SV40 ori	8639-8838	Origen de replicación de SV40
Promotor del CMV	8852-9451	Promotor del CMV para generar ARN del genoma viral
R	9507-86	Secuencia de repetición dentro de LTR

### Ejemplo 3: Producción de vectores para la transducción de linfocitos T de paciente

Para cada plásmido (IL13(EQ)BBZ-T2A-CD19t\_epHIV7; pCgp; pCMV-G; y pCMV-Rev2), se genera un banco de semillas, que se usa para inocular el fermentador para producir cantidades suficientes de ADN de plásmido. Se prueba el ADN de plásmido para identidad, esterilidad y endotoxina antes de su uso en la producción de vector lentiviral.

Brevemente, se expandieron las células a partir de las células de trabajo 293T (WCB), que se han probado para confirmar la esterilidad y la ausencia de contaminación viral. Se descongeló un vial de células 293T de WCB 293T. Las células se cultivaron y se expandieron hasta que existieron números suficientes de células para sembrar un número apropiado de 10 fábricas de células en capas (CFs) para la producción de vector y el mantenimiento del tren celular. Se puede usar un único tren de células para la producción.

Se produjo el vector lentiviral en sub-lotes de hasta 10 CFs. Se pueden producir dos sub-lotes en la misma semana que conducen a la producción de aproximadamente 20 L de sobrenadante lentiviral/semana. El material producido a partir de todos los sub-lotes se reunió durante la fase de procesamiento aguas abajo, para producir un lote de producto. Se sembraron células 293T en CFs en medio 293T (DMEM con 10 % de FBS). Las fábricas se pusieron en una estufa de incubación a 37 °C y se nivelaron horizontalmente para conseguir una distribución uniforme de las células sobre todas las capas de la CF. Dos días después, las células se transfectaron con los cuatro plásmidos lentivirales descritos anteriormente usando el método de CaPO<sub>4</sub>, que implica una mezcla de Tris:EDTA, CaCl<sub>2</sub> 2 M, 2X HBS y los cuatro plásmidos de ADN. El día 3 después de la transfección, se recogió el sobrenadante que contenía vectores lentivirales secretados, se purificó y se concentró. Después de retirar el sobrenadante de las CFs, se recogieron las células del final de la producción de cada CF. Se tripsinaron las células de cada fábrica y se recogieron por centrifugación. Las células se resuspendieron en medio de congelación y se criopreservaron. Estas células se usaron después para la prueba de lentivirus competente en la replicación (RCL).

Para purificar y formular vectores, se clarificó por filtración en membrana el sobrenadante en bruto para retirar el residuo celular. Se degradaron el ADN de células hospedadoras y el ADN de plásmido residual por digestión con endonucleasa (Benzonase®). Se depuró el sobrenadante viral del residuo celular usando un filtro de 0,45 µm. Se recogió el sobrenadante depurado en un recipiente previamente pesado en el que se añadió Benzonase® (concentración final 50 U/mL). Se realiza la digestión con endonucleasa para el ADN de plásmido residual y el ADN genómico hospedador a 37 °C durante 6 h. Se usó la concentración de la ultrafiltración de flujo tangencial inicial (TFF) del sobrenadante tratado con endonucleasa para retirar componentes residuales de bajo peso molecular del sobrenadante en bruto, mientras que se concentró el virus ~20 veces. Se hizo circular el sobrenadante viral tratado con endonucleasa depurada a través de un cartucho de fibra hueca con una NMWCO de 500 kD a un caudal diseñado para mantener la velocidad de cizallamiento a ~4.000 s<sup>-1</sup> o menos, mientras que se maximice el caudal. Se inició la diafiltración del sobrenadante tratado con nucleasa durante el proceso de concentración para mantener el rendimiento del cartucho. Se estableció una tasa de sustitución de 80 % de permeado usando 4 % de lactosa en PBS como tampón de diafiltración. Se llevó el sobrenadante viral al volumen objetivo, que representa una concentración de 20 veces del sobrenadante en bruto, y la diafiltración continuó durante 4 volúmenes de intercambio adicionales, con la tasa de sustitución de permeado a 100 %.

Se llevó a cabo la concentración adicional del producto viral usando una técnica de centrifugación de alta velocidad. Se sedimentó cada sub-lote del lentivirus usando una centrifugadora Sorvall RC-26 plus a 6000 rpm (6.088 RCF) a 6 °C durante 16-20 h. Entonces se reconstituyó el sedimento viral de cada sub-lote en un volumen de 50 mL con 4 % de lactosa en PBS. El sedimento reconstituido en este tampón representa la formulación final para la preparación de virus. Todo el proceso de concentración de vector produjo una reducción de volumen de 200 veces, aproximadamente. Tras completarse todos los sub-lotes, entonces se dispuso el material a -80 °C, mientras que las muestras de cada sub-lote se probaron para esterilidad. Tras la confirmación de la esterilidad de las muestras, se descongelaron rápidamente los sub-lotes a 37 °C con agitación frecuente. Entonces se reunió el material y se añadieron alícuotas manualmente en la cabina de bioseguridad de clase II tipo A/B3 en el grupo de vector viral. Se usó una configuración de llenado de 1 mL del lentivirus concentrado en crioviales con junta tórica externamente



roscados, clase 6 USP estériles. Los sistemas de calidad (QS) del Centro de Desarrollo de Tecnología Aplicada (CATD) en COH aprobaron todos los materiales según las políticas y procedimientos de operación estándar para CBG y en cumplimiento con las buenas prácticas de fabricación actuales (cGMPs).

5 Para garantizar la pureza de la preparación de vector lentiviral, se probó para contaminantes residuales de ADN hospedador, y la transferencia de ADN hospedador y de plásmido residual. Entre otras pruebas, se evaluó la identidad del vector por RT-PCR para garantizar que estuviera presente el vector correcto. Se cumplieron todos los criterios de aprobación para el vector previsto para su uso en este estudio.

**Ejemplo 4: Preparación de una población de células T<sub>CM</sub> de CD4+/CD8+ adecuada para su uso en ACT**

10 Un resumen de la estrategia de fabricación para una población de células T<sub>CM</sub> de CD4+/CD8+ se representa en la **Figura 8** (Esquema de fabricación para T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBζ/CD19t+). Específicamente, se tratan con Ficoll, se lavan y se incuban durante la noche los productos de aféresis obtenidos de los participantes en la investigación que dieron consentimiento. Entonces se agotaron las células en poblaciones de monocitos, linfocitos T reguladores y linfocitos T intactos usando reactivos anti-CD14, anti-CD25 y anti-CD45RA de calidad GMP (Miltenyi Biotec) y el dispositivo de separación CliniMACS™. Tras el agotamiento, se enriquecieron las células de fracción negativa en células T<sub>CM</sub> 15 CD62L+ usando microperlas de DREG56-biotina (calidad clínica de COH) y anti-biotina (Miltenyi Biotec) en el dispositivo de separación CliniMACS™. Las células no se agotan en células CD4+ ni en células CD8+.

Tras el enriquecimiento, se formulan las células T<sub>CM</sub> de CD4+/CD8+ en X-Vivo15 completo más 50 UI/mL de IL-2 y 0,5 ng/mL de IL-15 y se transfirieron a una bolsa de cultivo celular de teflón, donde se estimulan con perlas CD3/CD28 DynalClinEx™ Vivo. Hasta cinco días después de la estimulación, se transducen las células con un vector deseado que expresa un CAR (por ejemplo, el vector lentiviral IL13(EQ)BBZ-T2A-CD19t\_epHIV7) a una multiplicidad de infección (MOI) de, por ejemplo, 1,0 a 0,3. Los cultivos se mantienen durante hasta 42 días con adición de X-Vivo15 completo y citocina IL-2 y IL-15 según se requiera para la expansión de células (manteniendo la densidad celular entre 3x10<sup>5</sup> y 2x10<sup>6</sup> células viables/mL, y suplementación de citocinas cada lunes, miércoles y viernes de cultivo). Las células se expanden normalmente hasta aproximadamente 10<sup>9</sup> células en estas condiciones 20 en el plazo de 21 días. Al final del periodo de cultivo se recogen las células, se lavan dos veces y se formulan en medio de criopreservación de calidad clínica (Cryostore CS5, BioLife Solutions).

El (Los) día(s) de infusión de linfocitos T, se descongela, se lava y se formula para re-infusión el producto criopreservado y liberado. Se sacan del almacenamiento en nitrógeno líquido los viales criopreservados que contienen el producto celular liberado, se descongelan, se enfrían y se lavan con un tampón de lavado de PBS/2 % de albúmina de suero humano (HSA). Después de la centrifugación, se retira el sobrenadante y se resuspenden las células en una solución salina normal sin conservante (PFNS)/ 2 % de diluyente de infusión de HSA. Se retiran 30 muestras para la prueba del control de calidad.

Se realizaron dos series de cualificación en células obtenidas de donantes sanos usando la plataforma de fabricación descrita anteriormente. Cada producto de la serie de cualificación preclínica se asignó a un número de donante humano (HD) - HD006.5 y HD187.1. Y, lo que es más importante, como se muestra en la Tabla 5, estas series de cualificación se expandieron >80 veces en el plazo de 28 días y las células expandidas expresaron los transgenes IL13(EQ)BBy/CD19t. 35

**Tabla 5: Resumen de datos de expresión del producto de la serie de cualificación preclínica**

Producto celular	CAR	CD19	CD4+	CD8+	Veces de expansión
HD006.5	20 %	22 %	24 %	76 %	84 veces (28 días)
HD187.1	18 %	25 %	37 %	63 %	259 veces (28 días)

40 **Ejemplo 5: Análisis de citometría de flujo de la expresión de marcadores de transgenes superficiales y linfocitos T en T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBy/CD19t+**

Se usaron los dos productos de la serie de cualificación preclínica descritos en el Ejemplo 4 en estudios preclínicos como se describe a continuación. Las **Figuras 6A-C** representan los resultados del análisis de citometría de flujo de la expresión de marcadores de transgenes superficiales y linfocitos T. Se co-tiñeron T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBy/CD19t+ HD006.5 y HD187.1 con anti-IL13-PE y anti-CD8-FITC para detectar células CAR+ CD8+ y CAR+ CD4+ (es decir, CD8 negativas) (**Figura 6A**), o anti-CD 19-PE y anti-CD4-FITC para detectar células CD19t+ CD4+ y CAR+ CD8+ (es decir, CD4 negativas) (**Figura 6B**). Se tiñeron T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BBy/CD19t+ HD006.5 y HD187.1 con anti-CD3, TCR, CD4, CD8, CD62L y CD28 conjugados con fluorocromo (histogramas grises) o controles de isotipo (histogramas negros). (**Figura 6C**). En cada una de las **Figuras 6A-C**, los porcentajes indicados basados en linfocitos viables 45 (DAPI negativos) tiñeron el isotipo anterior.

**Ejemplo 6: Actividad efectora de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+**

Se evaluó la actividad efectora de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ y los resultados de este análisis se representan en las Figuras 7A-B. Brevemente, se usaron T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ HD006.5 y HD187.1 como efectores en un ensayo de liberación de <sup>51</sup>Cr de 6 horas usando una relación 10:1 de E:D basada en la expresión de CD19t. Se manipularon con K562 las dianas de tumor IL13R $\alpha$ 2-positivas para expresar IL13R $\alpha$ 2 (K562-IL13R $\alpha$ 2) y la línea de glioma primario PBT030-2, y el control de dianas de tumor IL13R $\alpha$ 2-negativas fue la línea parental K562 (**Figura 7A**). Se evaluaron IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ HD006.5 y HD187.1 para la producción de citocinas dependientes de antígeno siguiendo el co-cultivo durante la noche a una relación 10:1 de E:D con las mismas dianas IL13R $\alpha$ 2-positivas y negativas que se describen en anteriormente. Se midieron los niveles de citocinas usando el kit de ensayo de citocinas humanas TH1/TH2 de Bio-Plex Pro y se representan los niveles de INF- $\gamma$  (**Figura 7B**).

**Ejemplo 7: Actividad antitumoral *in vivo* de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+**

Los estudios descritos a continuación demuestran que T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ presentan eficacia antitumoral en modelos de ratón *in vivo*. Específicamente, los presentes inventores han evaluado la potencia antitumoral de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ contra la línea PBT030-2 de esferas tumorales de glioblastoma de bajo paso primarias IL13R $\alpha$ 2+, que se ha manipulado para expresar tanto genes indicadores EGFP como de luciferasa de luciérnaga (ffLuc) (PBT030-2 EGFP:ffLuc) (**6**). Un panel de líneas primarias (PBT) de especímenes de glioblastoma de paciente cultivados como esferas tumorales (TSs) en medio libre de suero. Estas líneas de TS expandidas presentan características de tipo célula madre, que incluyen la expresión de marcadores de célula madre, diferenciación multilínea y la capacidad para iniciar tumores ortotópicos en ratones inmunodeprimidos (NSG) a bajos números de células. Se ha usado previamente el modelo de xenoinjerto de iniciado por TS de PBT030-2 EGFP:ffLuc TS (0,1x10<sup>6</sup> células; injerto de 5 días) para evaluar la actividad antitumoral *in vivo* en ratones NSG de CAR específico de IL13R $\alpha$ 2 que expresan linfocitos T, por lo que se mostró que tres inyecciones de 2x10<sup>6</sup> linfocitos T citolíticos (CTLs) durante un transcurso de 2 semanas reducían el crecimiento tumoral. Sin embargo, en los experimentos, la mayoría de los tumores de PBT030-2 reaparecieron con el tiempo. Por comparación, una inyección única de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ (1,1x10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> de CAR+; 2x10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> totales) presentó una fuerte actividad antitumoral contra tumores de iniciados por TS de PBT030-2 EGFP:ffLuc (0,1x10<sup>6</sup> células; injerto de 5 días) como se muestra en las Figuras 8A-C. En comparación con ratones NSG tratados con ya fuera PBS o T<sub>CM</sub> transducidas con vector vacío (sin CAR), T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ reduce significativamente el flujo de ffLuc (p < 0,001 en >18 días) y mejora significativamente la supervivencia (p = 0,0008).

Brevemente, se implantaron estereotácticamente células tumorales PBT030-2 EGFP-ffLuc+ (1x10<sup>5</sup>) en el prosencéfalo derecho de ratones NSG. En el día 5, los ratones recibieron o bien 2x10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ (1,1x10<sup>6</sup> CAR+; n=6), 2x10<sup>6</sup> T<sub>CM</sub> simuladas (sin CAR; n=6) o bien PBS (n=6). La **Figura 8A** representa ratones representativos de cada grupo que muestra carga tumoral relativa usando Xenogen Living Imagen. La cuantificación del flujo de ffLuc (fotones/s) muestra que T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+ inducen la regresión tumoral en comparación con T<sub>CM</sub> transducidas con vector vacío y PBS (#p<0,02, \*p<0,001, ANOVA de medidas repetidas (**Figura 8B**)). Como se muestra en la **Figura 8C**, una curva de supervivencia de Kaplan Meier (n=6 por grupo) demuestra supervivencia significativamente mejorada (p=0,0008; prueba del orden logarítmico) para ratones tratados con T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t+.

**Ejemplo 8: Comparación de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ + y clones de CTL CD8+ IL13-zetakina distintos de T<sub>CM</sub> en eficacia antitumoral y persistencia de linfocitos T**

Los estudios descritos a continuación comparan T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ + y CTLs CD8+ humanos específicos de IL13R $\alpha$ 2 previamente creados (CTL CD8+ IL13-zetakina (descritos en Brown et al. 2012 Clin Cancer Res 18:2199 y Kahlon et al. 2004 Cancer Res 64:9160). IL13-zetakina usa un dominio coestimulante CD3 $\zeta$ , carece de un dominio coestimulante y usa la misma variante de IL13 que IL13(EQ)BB $\zeta$ +

Se generó un panel de líneas primarias (PBT) de especímenes de glioblastoma de paciente cultivados como esferas tumorales (TSs) en medio libre de suero (Brown et al. 2012 Clin Cancer Res 18:2199; Brown et al. 2009 Cancer Res 69:8886). Estas líneas de TS expandidas presentan características de tipo célula madre, que incluyen marcadores de expresión de células madre, diferenciación multilínea y capacidad para iniciar tumores ortotópicos en ratones inmunodeprimidos (NSG) a bajos números de células. Se usó la línea de TS PBT030-2 de glioblastoma de bajo paso primario IL13R $\alpha$ 2+, que se ha manipulado para expresar tanto los genes indicadores EGFP como de luciferasa de luciérnaga (ffLuc) (PBT030-2 EGFP:ffLuc) (Brown et al. 2012 Clin Cancer Res 18:2199) para los experimentos expuestos a continuación.

Primero, se comparó una dosis única (1x10<sup>6</sup> linfocitos T de CAR) de producto de T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ + con clones de CTL CD8+ IL13-zetakina evaluados contra xenoinjertos iniciados con TS de PBT030-2 EGFP:ffuc de día 8 (0,1x10<sup>6</sup> células). Mientras tanto, los linfocitos T de CAR específico de IL13R $\alpha$ 2 (CTL IL13-zetakina y T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ ) demostraron actividad antitumoral contra tumores de PBT030-2 establecidos en comparación con controles de T<sub>CM</sub> no tratadas y simuladas (CAR-negativas) (**Figuras 9A y 9B**), T<sub>CM</sub> IL13(EQ)BB $\zeta$ + medió significativamente en la supervivencia mejorada y la remisión duradera de tumores con ratones que vivieron >150 días en comparación con los clones de CTL CD8+ IL13-zetakina de primera generación (**Figura 9C**).

Para comparar adicionalmente la eficacia terapéutica de estos dos productos de linfocitos T de IL13R $\alpha$ 2-CAR, se realizó una valoración de dosis de 1,0, 0,3 y 0,1x10<sup>6</sup> linfocitos T de CAR contra tumores iniciados con TS de PBT030-2 EGFP:ffuc de día 8 (**Figuras 10A-C**). La dosis más alta (1x10<sup>6</sup>) de CTL CD8+ IL13-zetakina cl. 2D7 medió en las respuestas antitumorales como se mide por flujo de Xenogen en 3 de 6 animales (**Figura 10C**), pero no se observaron respuestas antitumorales significativas a dosis más bajas de linfocitos T de CAR. Por comparación, la inyección de producto de Tcm IL13(EQ)BB $\zeta$ + medió en la regresión tumoral completa en la mayoría de los ratones a todos los niveles de dosis, que incluye tratamiento con tan solo 0,1x10<sup>6</sup> linfocitos T de CAR. Estos datos demuestran que Tcm IL13(EQ)BB $\zeta$ + es al menos 10 veces más potente que los clones de CTL CD8+ IL13-zetakina en la eficacia antitumoral. La eficacia antitumoral mejorada es debida a la persistencia mejorada de linfocitos T en el microentorno tumoral. La evaluación de linfocitos T CD3+ 7 días después de la inyección i.c. reveló números significativos de Tcm IL13(EQ)BB $\zeta$ + en el microentorno tumoral, mientras que estuvieron presentes muy pocos CTLs IL13-zeta de primera generación (**Figura 11**).

#### **Ejemplo 9: Comparación de la vía de administración de linfocitos T de CAR para el tratamiento de grandes tumores de PBT iniciados por TS**

A continuación se describen estudios que comparan la vía de administración, intravenosa (i.v.) o intracraneal (i.c.), en la actividad antitumoral contra líneas de PBT primarias invasivas. En estudios piloto (datos no mostrados), se observó inesperadamente que Tcm IL13(EQ)BB $\zeta$ + administrados i.v. no proporcionaron beneficio terapéutico en comparación con PBS para el tratamiento de pequeños tumores de de PBT030-2 EGFP:ffLuc (día 5). Esto es a diferencia de la robusta eficacia terapéutica observada con linfocitos T de CAR+ administrados i.c. Razonando que los tumores de PBT030-2 de día 5 pueden haber sido demasiado pequeños para reclutar linfocitos T terapéuticos de la periferia, se hizo una comparación de la administración i.v. frente a i.c. contra mayores tumores de PBT030-2 EGFP:ffLuc de día 19. Para estos estudios, se trataron los ratones injertados con PBT030-2 con ya fuera dos infusiones i.v. (5 x 10<sup>6</sup> Tcm de CAR+; días 19 y 26) o cuatro infusiones i.c. (1 x 10<sup>6</sup> Tcm de CAR+; días 19, 22, 26 y 29) de Tcm IL13(EQ)BB $\zeta$ +, o bien Tcm simuladas (sin CAR). Aquí tampoco hay beneficio terapéutico como se monitoriza por obtención de imágenes de Xenogen o análisis de supervivencia de Kaplan-Meier para linfocitos T de CAR+ administrados i.v. (**Figuras 12A y 12B**). A diferencia, se observó potente actividad antitumoral para Tcm IL13(EQ)BB $\zeta$ + administrados i.c. (**Figuras 12A-B**). A continuación, se recogieron cerebros de una cohorte de ratones 7 días después de la inyección de linfocitos T y se evaluaron para linfocitos T humanos CD3+ por IHC. Sorprendentemente, para ratones tratados i.v. con ya fuera Tcm simuladas como Tcm IL13(EQ)BB $\zeta$  no hubo linfocitos T humanos CD3+ detectables en el tumor o en otras regiones del cerebro del ratón donde normalmente residen los linfocitos T humanos (es decir, las leptomeninges) (**Figura 12C**), sugiriendo un déficit en el tropismo tumoral. Esto es a diferencia del significativo número de linfocitos T detectados en los ratones tratados i.c. (**Figura 12D**).

Las citocinas derivadas de tumor, particularmente MCP-1/CCL2, son importantes en reclutar linfocitos al tumor. Así, se evaluaron células tumorales PBT030-2 y se encontró que esta línea produce altos niveles de MCP-1/CCL2 comparable a células U251T (datos no mostrados), una línea de glioma que se mostró previamente que atraía linfocitos T CD8+ efectores i.v. administrados a tumores injertados i.c. Los gliomas malignos son tumores altamente invasivos y son frecuentemente de presentación multifocal. Los estudios descritos anteriormente establecen que Tcm IL13BB $\zeta$  pueden eliminar tumores infiltrados tales como PBT030-2, y mediar en la actividad antitumoral duradera a largo plazo. También se examinó la capacidad de linfocitos T de CAR administrados por vía intracraneal para llegar a enfermedad multifocal. Para este estudio, se implantaron TSs de PBT030-2 EGFP:ffLuc en tanto los hemisferios izquierdo como derecho (**Figura 13A**) y se inyectaron linfocitos T de CAR+ solo en el sitio tumoral derecho. De modo alentador, para todos los ratones evaluados (n=3), los presentes inventores detectaron linfocitos T por IHC de CD3 7 días después de la infusión de linfocitos T tanto en el sitio de inyección (es decir, tumor derecho), como perfectamente dentro del tumor en el hemisferio izquierdo (**Figura 13B**). Estos hallazgos proporcionan evidencia de que los linfocitos T de CAR+ son capaces de llegar e infiltrar los focos tumorales en sitios remotos. También se observaron hallazgos similares en un segundo modelo tumoral usando la línea celular de glioma U251T (datos no mostrados).

#### **Ejemplo 10: Secuencias de IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t**

La secuencia de aminoácidos completa de IL13(EQ)BB $\zeta$ /CD19t se representa en la **Figura 17**. La secuencia entera (SEQ ID NO: 1) incluye: un péptido señal GMCSF de 22 aminoácidos (SEQ ID NO: 2), una secuencia de IL-13 de 112 aminoácidos (SEQ ID NO: 3; sustitución de aminoácidos E13Y mostrada en negrita); una secuencia de IgG4 de 229 aminoácidos (SEQ ID NO: 4; con sustituciones de aminoácidos L235E y N297Q mostradas en negrita); una secuencia transmembrana CD4 de 22 aminoácidos (SEQ ID NO: 5); una secuencia de 4-1BB de 42 aminoácidos (SEQ ID NO: 6); un conector Gly de 3 aminoácidos; una secuencia de CD3 $\zeta$  de 112 aminoácidos (SEQ ID NO: 7); una secuencia de T2A de 24 aminoácidos (SEQ ID NO: 8); y una secuencia de CD19t de 323 aminoácidos (SEQ ID NO: 9).

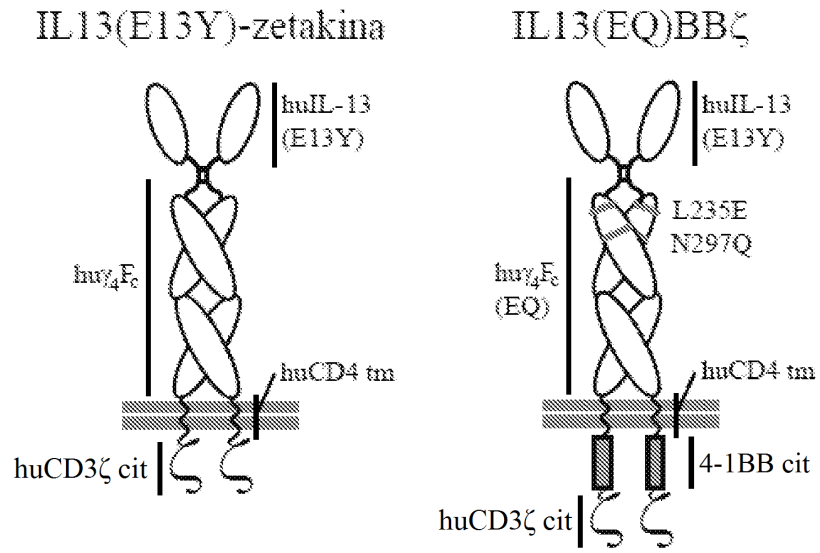
La secuencia madura del receptor de antígeno quimérico (SEQ ID NO: 10) incluye: una secuencia de IL-13 de 112 aminoácidos (SEQ ID NO: 3; sustitución de aminoácidos E13Y mostrada en negrita); una secuencia de IgG4 de 229 aminoácidos (SEQ ID NO: 4; con sustituciones de aminoácidos L235E y N297Q mostradas en negrita); una secuencia CD4 de 22 aminoácidos (SEQ ID NO: 5); una secuencia de 4-1BB de 42 aminoácidos (SEQ ID NO: 6); un

conector Gly de 3 aminoácidos; y una secuencia de CD3 $\zeta$  de 112 aminoácidos (SEQ ID NO: 7). Dentro de esta secuencia de CAR (SEQ ID NO: 10) está la secuencia de IL-13/IgG4/CD4t/4-1BB (SEQ ID NO: 11), que incluye: una secuencia de IL-13 de 112 aminoácidos (SEQ ID NO: 3; sustitución de aminoácidos E13Y mostrada en negrita); una secuencia de IgG4 de 229 aminoácidos (SEQ ID NO: 4; con sustituciones de aminoácidos L235E y N297Q mostradas en negrita); una secuencia de CD4 de 22 aminoácidos (SEQ ID NO: 5); y una secuencia de 4-1BB de 42 aminoácidos (SEQ ID NO: 6). La secuencia de IL13/IgG4/CD4t/4-1BB (SEQ ID NO: 11) se pueden unir a la secuencia de CD3 $\zeta$  de 112 aminoácidos (SEQ ID NO: 7) por un conector tal como un conector GlyGlyGly. La secuencia de CAR (SEQ ID NO: 10) puede ir precedida por un péptido señal GMCSF de 22 aminoácidos (SEQ ID NO: 2). La **Figura 18** representa una comparación de las secuencias de IL13(EQ)41BB $\zeta$ [IL13{EQ}41BB $\zeta$  T2A-CD19t\_epHIV7; pF02630] (SEQ ID NO: 12) y CD19Rop\_epHIV7 (pJ01683) (SEQ ID NO: 13).

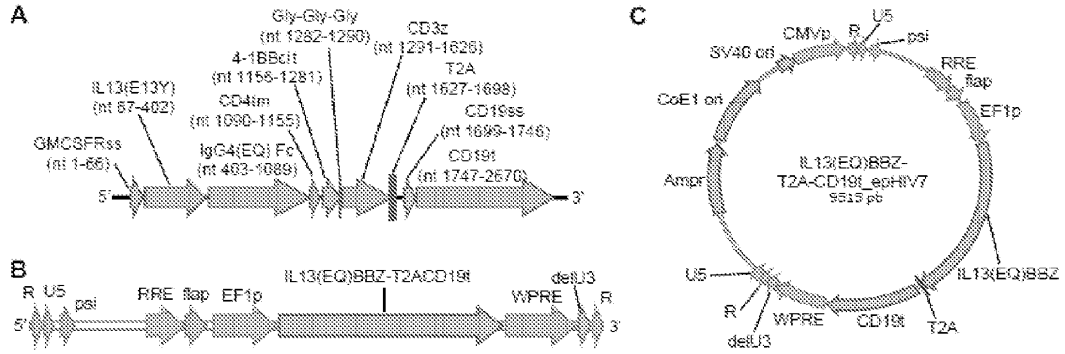
**REIVINDICACIONES**

1. Una población de linfocitos T humanos transducidos con un vector que expresa un receptor de antígeno quimérico en donde:
- al menos 50 % de los linfocitos T humanos transducidos son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra-,
- 5 al menos 10 % de las células son CD4+,
- al menos 10 % de las células son CD8+,
- al menos 10 % de las células que son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra- también son CD4+, y
- al menos 10 % de las células que son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra- también son CD8+.
- 10 2. La población de linfocitos T humanos de la reivindicación 1 en donde al menos 15 % de las células que son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra- también son CD4+ y al menos 15 % de las células que son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra- también son CD8+.
3. Una composición para su uso en el tratamiento del cáncer que comprende una composición farmacéutica que comprende la población de linfocitos T humanos de cualquiera de las reivindicaciones 1-2.
- 15 4. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 3 en donde la población de linfocitos T humanos es autóloga para el paciente o en donde la población de linfocitos T humanos es alogénica para el paciente.
5. Un método para preparar una población de linfocitos T de memoria central utilizando una población de linfocitos T obtenida a partir de un sujeto humano, que comprende:
- agotar la población de linfocitos T en células que expresan CD25, células que expresan CD14 y células que expresan CD45Ra para preparar una población de linfocitos T agotados;
- 20 enriquecer la población de linfocitos T agotados en células que expresan CD62L, con lo que se prepara de este modo una población de linfocitos T de memoria central,
- en donde el método no comprende una etapa de agotamiento de una población celular en células que expresan CD4+ y no comprende una etapa de agotamiento de una población celular en células que expresan CD8+.
6. El método de la reivindicación 5 en donde
- 25 al menos 50 % de las células en la población de linfocitos T de memoria central son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra-,
- al menos 10 % de las células son CD4+, y
- al menos 10 % de las células son CD8+.
7. El método de la reivindicación 5 en donde al menos 50 % de las células en la población de linfocitos T de memoria central son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra-, al menos 15 % de las células son CD4+ y al menos 15 % de las células son CD8+.
- 30 8. El método de la reivindicación 5 en donde al menos 50 % de las células en la población de linfocitos T de memoria central son CD45R0+, CD62L+ y CD45Ra-, al menos 20 % de las células son CD4+ y al menos 20 % de las células son CD8+.
9. El método de la reivindicación 5 que comprende además estimular la población de linfocitos T de memoria central.
- 35 10. El método de la reivindicación 9 que comprende poner en contacto la población de linfocitos T de memoria central con CD3 y/o CD28.
11. El método de la reivindicación 9 que comprende además transducir las células con un vector que expresa una proteína recombinante para crear una población de linfocitos T de memoria central modificados genéticamente.
- 40 12. El método de la reivindicación 11 que comprende además expandir la población de linfocitos T de memoria central modificados genéticamente.
13. El método de la reivindicación 12, en donde la etapa de expandir la población de linfocitos T de memoria central modificados genéticamente comprende exponer las células a una de entre IL-2 e IL-15 o ambas.

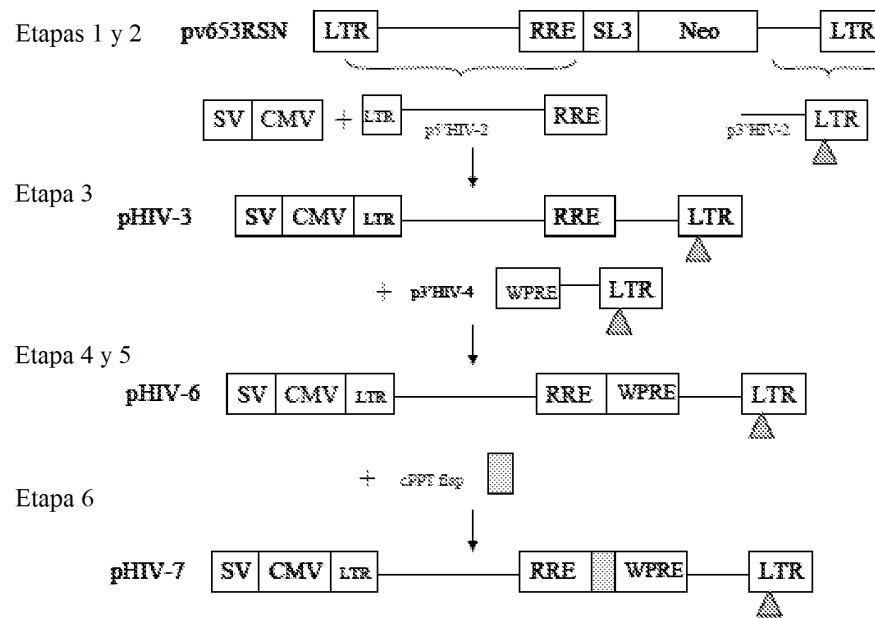
**FIGURA 1**



**FIGURA 2**

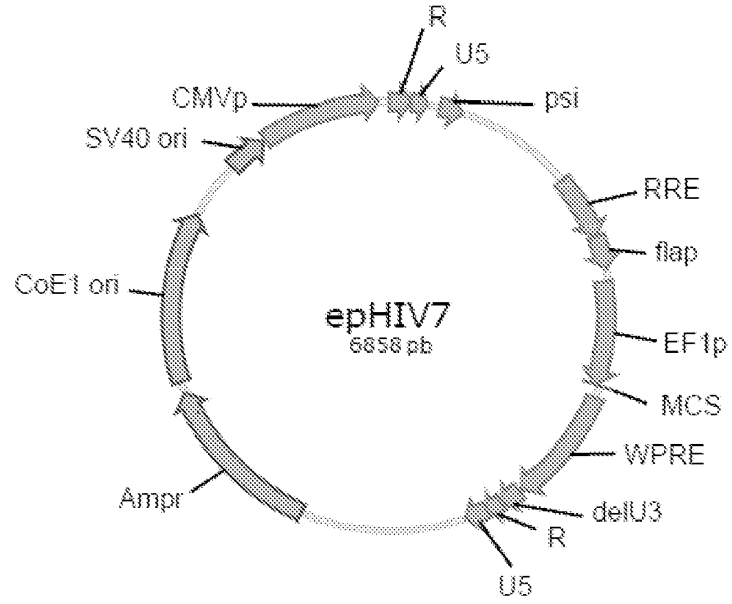


**FIGURA 3**

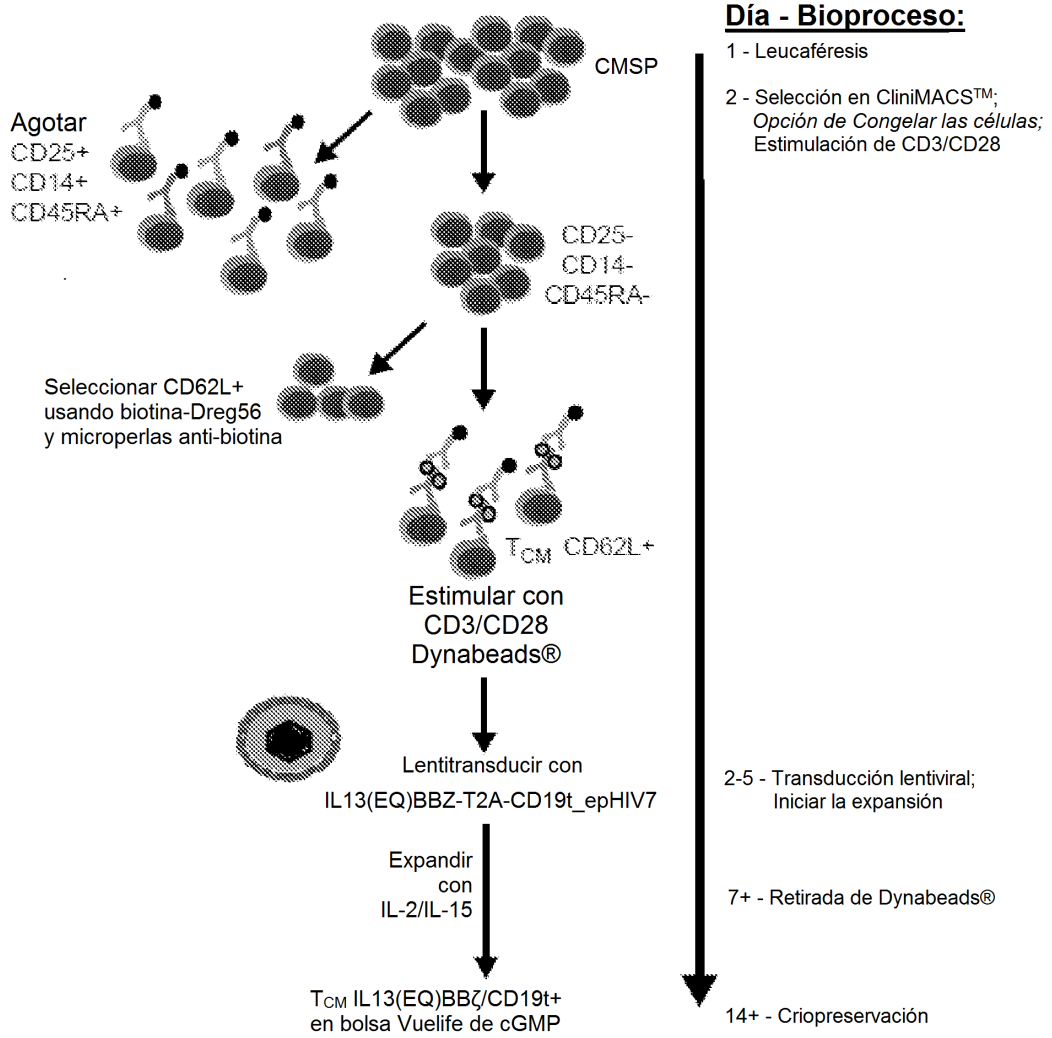




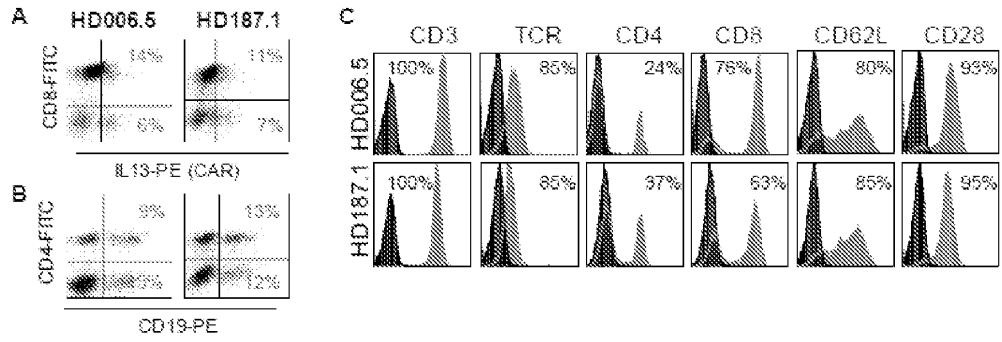
**FIGURA 4**



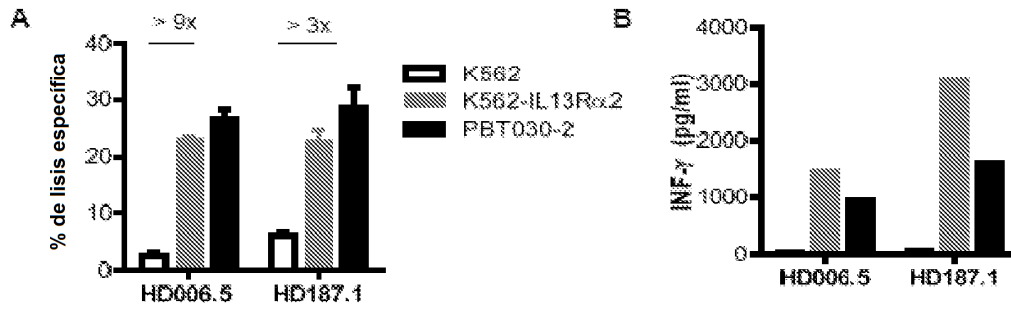
**FIGURA 5**



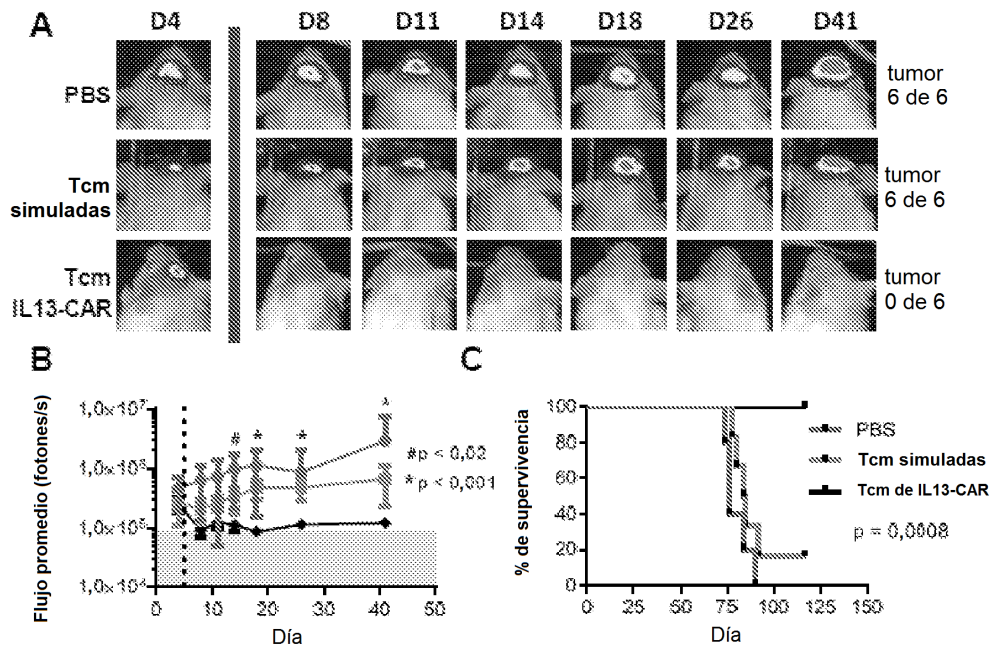
**FIGURA 6**

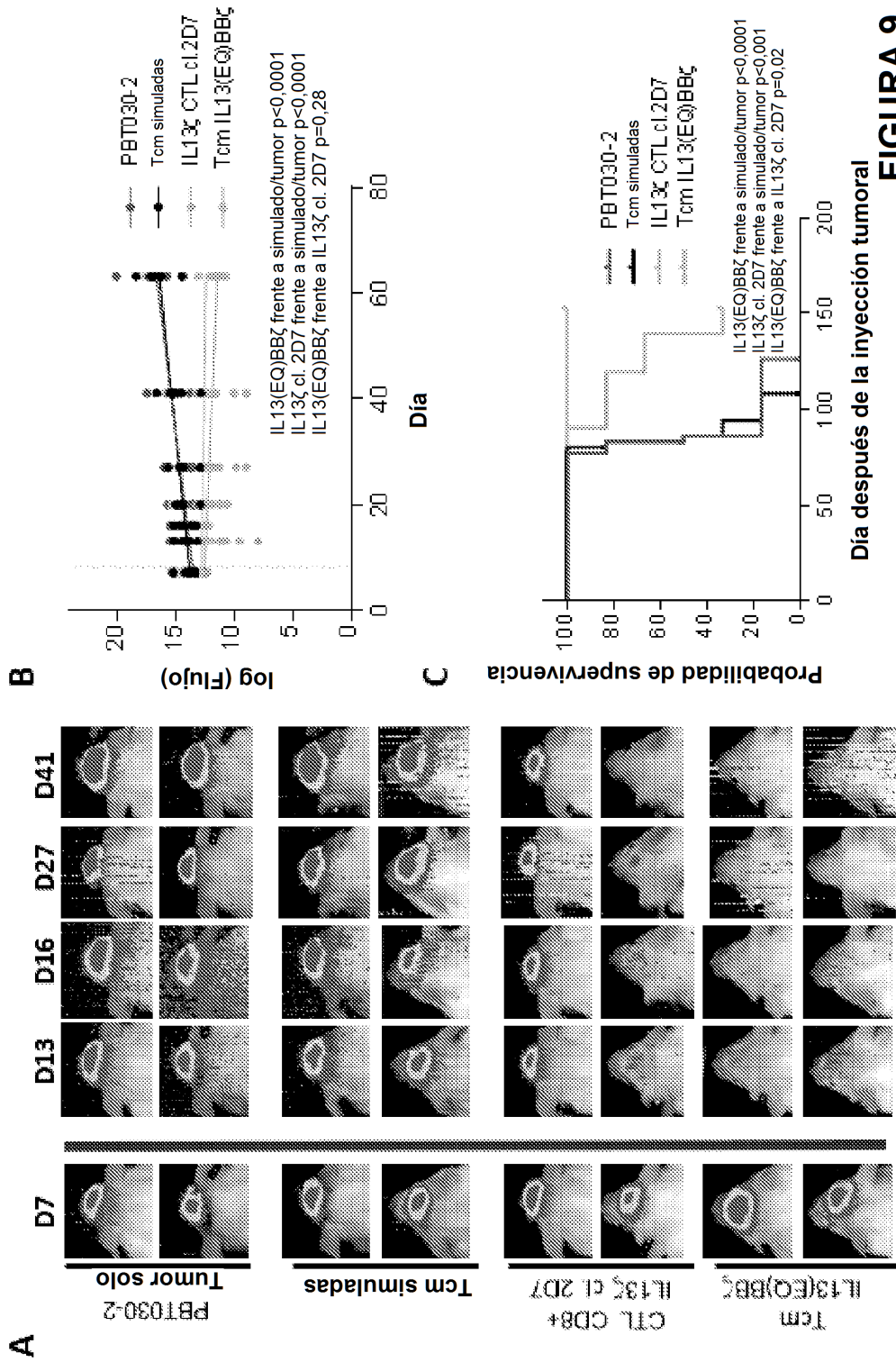


**FIGURA 7**

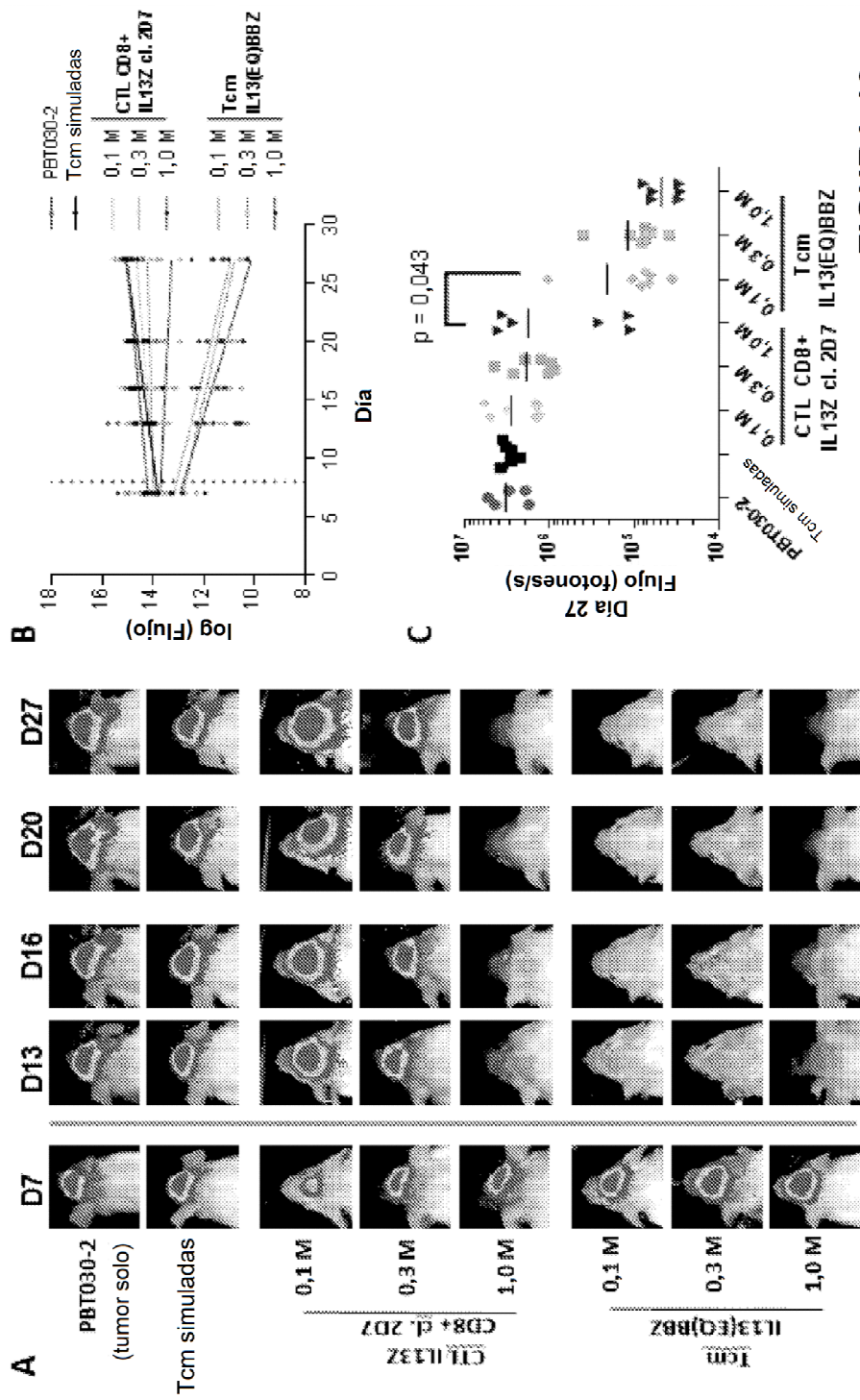


**FIGURA 8**



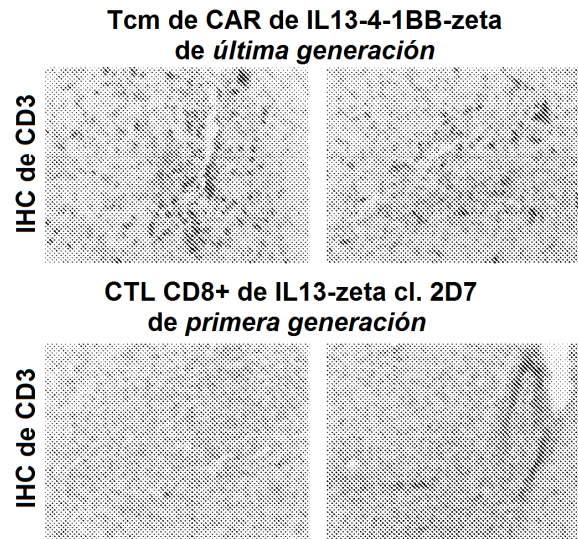


**FIGURA 9**  
Día después de la inyección tumoral



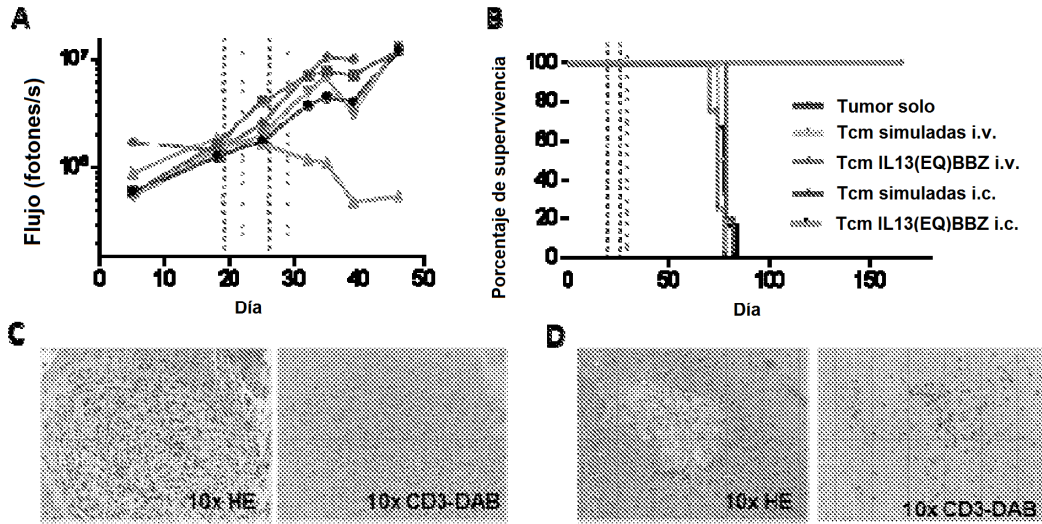
**FIGURA 10**

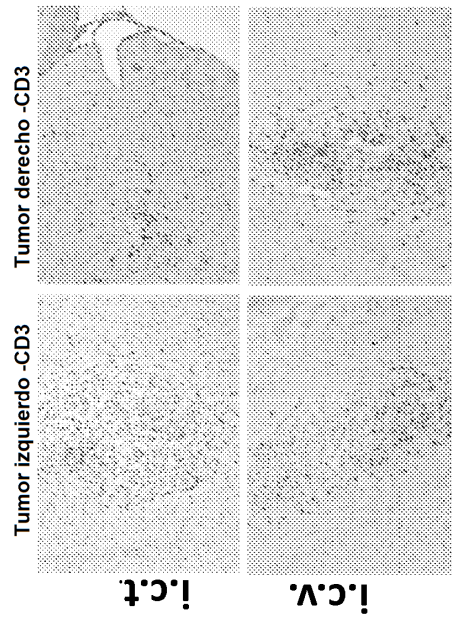
**FIGURA 11**



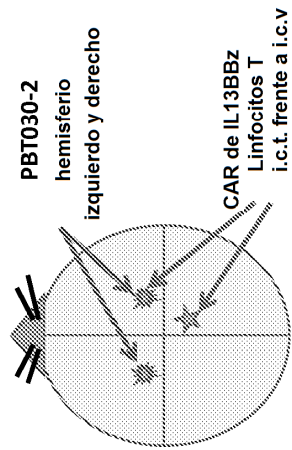


**FIGURA 12**





**B**



**A**

FIGURA 13

**FIGURA 14**

MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPGPVPPSTALRYLIEELVNITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGM

Péptido señal GMCSFRa (22 aa) IL13 (112 aa)

YCAALESLINVSGCSAIEKTQRMISGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKDLLLHLKLF

REGRFNESKYGPPCPPCAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF

IgG4 (L235E, N297Q en negrita) (229 aa)

NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS

KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL

DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKMALIVLGGVAGLL

CD4tm (22 aa)

LFIGLGIFFKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELGGGRVKFSRSADA

41BB (42 aa)

Gly3 Zeta (112 aa)

PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE

AYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRLEGGGEGRGSLLTCGDV

T2A (24 aa)

EENPGPRMPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRE

CD19t (323 aa)

**FIGURA 14 (cont)**

SPLKPFKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVE

GSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCVPPR

DSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSGCVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARD

MWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTL

AYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKR

**FIGURA 15**

El subrayado amarillo indica la región de codón optimizado de IL-13 que incluye la secuencia señal de GMCSF (IL13op).  
 subrayado indica la región de codón optimizado de IgG4 (IgG4op[L235E, N297Q]).  
 subrayado indica los dos cambios de aminoácidos esperados dentro de la región bisagra de IgG4 (L235E y N297Q).  
 subrayado indica la región de codón optimizado transmembrana CD4.  
 subrayado indica la región de señalización citoplásmica 41BB (41BB cito).  
 subrayado indica los conectores de 3 glicinas (g3).  
 El subrayado gris indica la región de codón optimizado CD3 zeta (zeta op).  
 subrayado indica la secuencia de T2A (T2A).  
 subrayado indica la secuencia de CD19 truncado (CD19t).

		1		50
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1)	GTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCAC		
CD19Rop_epHIV7	(1)	GTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCAC		
Consenso	(1)	GTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCAC		
		51		100
IL13 (EQ) 41BBzeta	(51)	TGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCCTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCC		
CD19Rop_epHIV7	(51)	TGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCCTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCC		
Consenso	(51)	TGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCCTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCC		
		101		150
IL13 (EQ) 41BBzeta	(101)	CGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTC		
CD19Rop_epHIV7	(101)	CGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTC		
Consenso	(101)	CGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTC		
		151		200
IL13 (EQ) 41BBzeta	(151)	AGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAA		
CD19Rop_epHIV7	(151)	AGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAA		
Consenso	(151)	ACTCTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAA		
		201		250
IL13 (EQ) 41BBzeta	(201)	AGGGAAACCAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGC		
CD19Rop_epHIV7	(201)	AGGGAAACCAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGC		
Consenso	(201)	AGGGAAACCAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGC		
		251		300
IL13 (EQ) 41BBzeta	(251)	GCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTG		
CD19Rop_epHIV7	(251)	GCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTG		
Consenso	(251)	GCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTG		
		301		350
IL13 (EQ) 41BBzeta	(301)	ACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAA		
CD19Rop_epHIV7	(301)	ACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAA		
Consenso	(301)	ACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAA		
		351		400
IL13 (EQ) 41BBzeta	(351)	GCGGGGAGAAATTAGATCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGCCAGGGGGA		
CD19Rop_epHIV7	(351)	GCGGGGAGAAATTAGATCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGCCAGGGGGA		
Consenso	(351)	GCGGGGAGAAATTAGATCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGCCAGGGGGA		
		401		450
IL13 (EQ) 41BBzeta	(401)	AAGAAAAAATATAAATTTAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGA		
CD19Rop_epHIV7	(401)	AAGAAAAAATATAAATTTAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGA		
Consenso	(401)	AAGAAAAAATATAAATTTAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGA		
		451		500

FIGURA 15 (cont)

IL13 (EQ) 41BBzeta	(451)	ACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGAC
CD19Rop_epHIV7	(451)	ACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGAC
Consenso	(451)	ACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGAC 501 550
IL13 (EQ) 41BBzeta	(501)	AAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAAGCTT
CD19Rop_epHIV7	(501)	AAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAAGCTT
Consenso	(501)	AAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAAGCTT 551 600
IL13 (EQ) 41BBzeta	(551)	AGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGAT
CD19Rop_epHIV7	(551)	AGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGAT
Consenso	(551)	AGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGAT 601 650
IL13 (EQ) 41BBzeta	(601)	AGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAA
CD19Rop_epHIV7	(601)	AGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAA
Consenso	(601)	AGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAA 651 700
IL13 (EQ) 41BBzeta	(651)	ACAAAAGTAAGAAAAAGCACAGCAAGCAGCAGCTGACACAGGACACAGC
CD19Rop_epHIV7	(651)	ACAAAAGTAAGAAAAAGCACAGCAAGCAGCAGCTGACACAGGACACAGC
Consenso	(651)	ACAAAAGTAAGAAAAAGCACAGCAAGCAGCAGCTGACACAGGACACAGC 701 750
IL13 (EQ) 41BBzeta	(701)	AATCAGGTCAGCCAAAATTACCCTATAGTGCAGAACATCCAGGGGCAAAAT
CD19Rop_epHIV7	(701)	AATCAGGTCAGCCAAAATTACCCTATAGTGCAGAACATCCAGGGGCAAAAT
Consenso	(701)	AATCAGGTCAGCCAAAATTACCCTATAGTGCAGAACATCCAGGGGCAAAAT 751 800
IL13 (EQ) 41BBzeta	(751)	GGTACATCAGGCCATATCACCTAGAAGCTTTAAATGCATGGGTAAGTAG
CD19Rop_epHIV7	(751)	GGTACATCAGGCCATATCACCTAGAAGCTTTAAATGCATGGGTAAGTAG
Consenso	(751)	GGTACATCAGGCCATATCACCTAGAAGCTTTAAATGCATGGGTAAGTAG 801 850
IL13 (EQ) 41BBzeta	(801)	TAGAAGAGAAGGCTTTCAGCCAGAAGTGATACCCATGTTTTTCAGCATT
CD19Rop_epHIV7	(801)	TAGAAGAGAAGGCTTTCAGCCAGAAGTGATACCCATGTTTTTCAGCATT
Consenso	(801)	TAGAAGAGAAGGCTTTCAGCCAGAAGTGATACCCATGTTTTTCAGCATT 851 900
IL13 (EQ) 41BBzeta	(851)	TCAGAAGGAGCCACCCACAAGATTTAAACACCATGCTAAACACAGTGGG
CD19Rop_epHIV7	(851)	TCAGAAGGAGCCACCCACAAGATTTAAACACCATGCTAAACACAGTGGG
Consenso	(851)	TCAGAAGGAGCCACCCACAAGATTTAAACACCATGCTAAACACAGTGGG 901 950
IL13 (EQ) 41BBzeta	(901)	GGGACATCAAGCAGCCATGCAAATGTTAAAAGAGACCATCAATGAGGAAG
CD19Rop_epHIV7	(901)	GGGACATCAAGCAGCCATGCAAATGTTAAAAGAGACCATCAATGAGGAAG
Consenso	(901)	GGGACATCAAGCAGCCATGCAAATGTTAAAAGAGACCATCAATGAGGAAG 951 1000
IL13 (EQ) 41BBzeta	(951)	CTGCAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAAT
CD19Rop_epHIV7	(951)	CTGCAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAAT
Consenso	(951)	CTGCAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAAT 1001 1050
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1001)	AGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCG
CD19Rop_epHIV7	(1001)	AGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCG
Consenso	(1001)	AGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCG 1051 1100
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1051)	CAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATA
CD19Rop_epHIV7	(1051)	CAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATA
Consenso	(1051)	CAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATA 1101 1150
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1101)	GTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCT
CD19Rop_epHIV7	(1101)	GTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCT
Consenso	(1101)	GTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCT

FIGURA 15 (cont)

		1151	1200
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1151)	GTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGG	
CD19Rop_epHIV7	(1151)	GTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGG	
Consenso	(1151)	GTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGG	
		1201	1250
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1201)	CTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTGGGGTTGC	
CD19Rop_epHIV7	(1201)	CTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTGGGGTTGC	
Consenso	(1201)	CTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTGGGGTTGC	
		1251	1300
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1251)	TCTGGAAAACACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGATCTACAAATGGCA	
CD19Rop_epHIV7	(1251)	TCTGGAAAACACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGATCTACAAATGGCA	
Consenso	(1251)	TCTGGAAAACACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGATCTACAAATGGCA	
		1301	1350
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1301)	GTATTTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGATTGGGGGTACAGTGC	
CD19Rop_epHIV7	(1301)	GTATTTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGATTGGGGGTACAGTGC	
Consenso	(1301)	GTATTTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGATTGGGGGTACAGTGC	
		1351	1400
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1351)	AGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAAT	
CD19Rop_epHIV7	(1351)	AGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAAT	
Consenso	(1351)	AGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAAT	
		1401	1450
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1401)	TACAAAAACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGGAC	
CD19Rop_epHIV7	(1401)	TACAAAAACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGGAC	
Consenso	(1401)	TACAAAAACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGGAC	
		1451	1500
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1451)	AGCAGAGATCCAGTTTGGGGATCAATTGCATGAAGAATCTGCTTAGGGTT	
CD19Rop_epHIV7	(1451)	AGCAGAGATCCAGTTTGGGGATCAATTGCATGAAGAATCTGCTTAGGGTT	
Consenso	(1451)	AGCAGAGATCCAGTTTGGGGATCAATTGCATGAAGAATCTGCTTAGGGTT	
		1501	1550
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1501)	AGGCGTTTTGCGCTGCTTCGCGAGGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTC	
CD19Rop_epHIV7	(1501)	AGGCGTTTTGCGCTGCTTCGCGAGGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTC	
Consenso	(1501)	AGGCGTTTTGCGCTGCTTCGCGAGGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTC	
		1551	1600
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1551)	AGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGG	
CD19Rop_epHIV7	(1551)	AGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGG	
Consenso	(1551)	AGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGG	
		1601	1650
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1601)	GTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGA	
CD19Rop_epHIV7	(1601)	GTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGA	
Consenso	(1601)	GTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGA	
		1651	1700
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1651)	AAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCGAGGGTGGGGGAGAAC	
CD19Rop_epHIV7	(1651)	AAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCGAGGGTGGGGGAGAAC	
Consenso	(1651)	AAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCGAGGGTGGGGGAGAAC	
		1701	1750
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1701)	CGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTT	
CD19Rop_epHIV7	(1701)	CGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTT	
Consenso	(1701)	CGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTT	
		1751	1800
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1751)	GCCGCCAGAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACG	
CD19Rop_epHIV7	(1751)	GCCGCCAGAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACG	
Consenso	(1751)	GCCGCCAGAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACG	
		1801	1850
IL13 (EQ) 41BBzeta	(1801)	CGCCCGCCGCTTACCTGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTC	
CD19Rop_epHIV7	(1801)	CGCCCGCCGCTTACCTGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTC	

# ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

	Consenso	(1801)	CGCCCGCCGCCCTACCTGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTC	1900
			1851	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(1851)	TGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTCCGCGCTCTAGGTA	
CD19Rop_epHIV7		(1851)	TGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTCCGCGCTCTAGGTA	
	Consenso	(1851)	TGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTCCGCGCTCTAGGTA	1950
			1901	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(1901)	AGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCGCTCCCTTGAG	
CD19Rop_epHIV7		(1901)	AGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCGCTCCCTTGAG	
	Consenso	(1901)	AGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCGCTCCCTTGAG	2000
			1951	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(1951)	CCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCTGACCTGCTTGCTC	
CD19Rop_epHIV7		(1951)	CCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCTGACCTGCTTGCTC	
	Consenso	(1951)	CCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCTGACCTGCTTGCTC	2050
			2001	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2001)	AACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAG	
CD19Rop_epHIV7		(2001)	AACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAG	
	Consenso	(2001)	AACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAG	2100
			2051	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2051)	CTGTGACCGGCGCTACGGTAGCGCCGCCACCATGCTGTGCTGGTGAC	
CD19Rop_epHIV7		(2051)	CTGTGACCGGCGCTACGGTAGCGCCGCCACCATGCTGTGCTGGTGAC	
	Consenso	(2051)	CTGTGACCGGCGCTACGGTAGCGCCGCCACCATGCTGTGCTGGTGAC	2150
			2101	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2101)	CAGCCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCCACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCTG	
CD19Rop_epHIV7		(2101)	CAGCCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCCACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCTG	
	Consenso	(2101)	CAGCCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCCACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCTG	2200
			2151	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2151)	GC--CCCG-TGCCCCCTAGCACCGCC---CTGCGTACCTGATCGAGGAA	
CD19Rop_epHIV7		(2151)	ACATCCAGATGACCAGACCACCTCCAGCCTGAGCGCCAGCCTGGGCGAC	
	Consenso	(2151)	C CC G TG CCC A CACC CC CTG GC C T G GA	2250
			2201	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2195)	CTGGTGA-----ACATCACCAGAACAGAA	
CD19Rop_epHIV7		(2201)	CGGGTGACCATCAGCTGCCGGGCCAGCCAGGACATCAGCAAGTACCTGAA	
	Consenso	(2201)	C GGTGA ACATCA C AG ACC GAA	2300
			2251	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2221)	-----AGCCC-----CC-----CTGTGCAAC----	
CD19Rop_epHIV7		(2251)	CTGGTATCAGCAGAAGCCCGACGGCACCGTCAAGCTGTGATCTACCACA	
	Consenso	(2251)	AGCCC CC CTG C AC	2350
			2301	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2237)	-----GGCAGCAT---GGTGTG-----	
CD19Rop_epHIV7		(2301)	CCAGCCGGCTGCACAGCGGCTGCCAGCCGGTTTAGCGGCAGCGGCTCC	
	Consenso	(2301)	GGC GCA GG GTG	2400
			2351	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2251)	-----GAGCATC---AACCTG-----	
CD19Rop_epHIV7		(2351)	GGCACCAGACTACAGCCTGACCATCTCCAACCTGGAACAGGAAGATATCGC	
	Consenso	(2351)	GA CATC AACCTG	2450
			2401	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2264)	-ACC-----GCCGCATGT-----ACTG-----TGCCGCC-	
CD19Rop_epHIV7		(2401)	CACCTACTTTTGCCAGCAGGGCAACACACTGCCCTACACCTTTGGCGGCG	
	Consenso	(2401)	ACC GCC GCA G ACTG TG CG C	2500
			2451	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2288)	-----CTGGAAA-----GCCTGATCAACGTGAGCGGCT-----	
CD19Rop_epHIV7		(2451)	GAACAAAGCTGGAAATCACCGGCAGCACCTCCGGCAGCGGCAAGCCTGGC	
	Consenso	(2451)	CTGGAAA GC A C CG AGCGGC	2550
			2501	
IL13 (EQ) 41BBzeta		(2316)	-----GCAGCGCCATCG-----AGAAAA-----	



# ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

CD19Rop_epHIV7	(2501)	AGCGGCGAGGGCAGCACCAAGGGCGAGGTGAAGCTGCAGGAAAGCGGCC	
Consenso	(2501)	GCAGC CCA G	AG AAA
		2551	2600
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2334)	-----CCCAGCG-----	
CD19Rop_epHIV7	(2551)	TGGCCTGGTGGCCCCAGCCAGACCTGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCG	
Consenso	(2551)	CCCAGC	
		2601	2650
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2341)	----GATGCTGTCCGGCTTCTGC-----CCCCACAAG	
CD19Rop_epHIV7	(2601)	GCGTGAGCCTGCCCGACTACGGCGTGAGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGG	
Consenso	(2601)	GA CTG CCG CT C GC	
		2651	2700
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2369)	-----GTGTCCGCCGGAC-----AGTT	
CD19Rop_epHIV7	(2651)	AAGGGCCTGGAATGGCTGGGCGTGATCTGGGGCAGCGAGACCACCTACTA	
Consenso	(2651)	G G C GC GAC	
		2701	2750
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2386)	CAGCAGCCTGC--ACGTGCGGG-----ACACCAAGA	
CD19Rop_epHIV7	(2701)	CAACAGCGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACAGCAAGA	
Consenso	(2701)	CA CAGC C A G GC GG	
		2751	2800
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2415)	TCGAGGTGGCCAGTTCGTGAAGGACCTGCTG-----C	
CD19Rop_epHIV7	(2751)	GCCAGGTGTTCCCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCCGACGACCCGCCATC	
Consenso	(2751)	C AGGTG CC G TGAA CCTGC G	
		2801	2850
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2448)	TGCACCTG----AAGAA-----GCTGTTCCG----GGA---	
CD19Rop_epHIV7	(2801)	TACTACTGCGCCAAGCACTACTACTACGGCGGCAGCTACGCCATGGACTA	
Consenso	(2801)	T C CTG AAG A GC G T CG GGA	
		2851	2900
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2473)	---GGGCGGTTCAAC-----	
CD19Rop_epHIV7	(2851)	CTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCAGCGAGAGCAAGTACGGCC	
Consenso	(2851)	GGGCC G CA C GAGAGCAAGTACGGCC	
		2901	2950
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2502)	CTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTG	
CD19Rop_epHIV7	(2901)	CTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCCCC GAGTTC GGGCGGACCCAGCGTG	
Consenso	(2901)	2951	
			3000
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2552)	TTCCTGTTCSCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCC	
CD19Rop_epHIV7	(2951)	TTCCTGTTCSCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCC	
Consenso	(2951)	3001	
			3050
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2602)	CGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGATCCCGAGGTCC	
CD19Rop_epHIV7	(3001)	GAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGATCC GAGGTCC	
Consenso	(3001)	3051	
			3100
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2652)	AGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAG	
CD19Rop_epHIV7	(3051)	AGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAG	
Consenso	(3051)	3101	
			3150
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2702)	CCCAGGGAAGAGCAGTTCAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC	
CD19Rop_epHIV7	(3101)	CCCAGGGAAGAGCAGTTC A AGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC	
Consenso	(3101)	3151	
			3200
IL13 (EQ) 41BBZeta	(2752)	CGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTGT	
CD19Rop_epHIV7	(3151)	CGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTGT	
Consenso	(3151)	3201	
			3250

ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

IL13 (EQ) 41BBzeta	(2802)		
CD19Rop_epHIV7	(3201)	CCAACAAGGGCCTGCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAG	
Consenso	(3201)	CCAACAAGGGCCTGCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAG	3300
		3251	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(2852)		
CD19Rop_epHIV7	(3251)	GGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTTCCCAGGAAGA	
Consenso	(3251)	GGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTTCCCAGGAAGA	3350
		3301	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(2902)		
CD19Rop_epHIV7	(3301)	GATGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACC	
Consenso	(3301)	GATGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACC	3400
		3351	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(2952)		
CD19Rop_epHIV7	(3351)	CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGCCAGCCCAGAGAACAAC	
Consenso	(3351)	CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGCCAGCCCAGAGAACAAC	3450
		3401	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3002)	TACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTA	
CD19Rop_epHIV7	(3401)	TACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTA	
Consenso	(3401)	TACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTA	3500
		3451	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3052)	CAGCAGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGCTTTTA	
CD19Rop_epHIV7	(3451)	CAGCAGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGCTTTTA	
Consenso	(3451)	CAGCAGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGCTTTTA	3550
		3501	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3102)	GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGC	
CD19Rop_epHIV7	(3501)	GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGC	
Consenso	(3501)	GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGC	3600
		3551	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3152)	CTGTCCCTGAGCCTGGGCAAG	
CD19Rop_epHIV7	(3551)	CTGTCCCTGAGCCTGGGCAAGATGGCCCTGATCGTGTGGCGGGCGTGGC	
Consenso	(3551)	CTGTCCCTGAGCCTGGGCAAGATGGCCCTGATCGTGTGGCGGGCGTGGC	3650
		3601	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3202)		
CD19Rop_epHIV7	(3601)	CGGGCTGCTGCTGTTCATCGGCCTGGGCATCTTTTTTC-----	
Consenso	(3601)	CGGGCTGCTGCTGTTCATCGGCCTGGGCATCTTTTTTC	3700
		3651	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3252)		
CD19Rop_epHIV7	(3638)	-----C-----	
Consenso	(3651)	C	3750
		3701	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3302)		
CD19Rop_epHIV7	(3639)	-----	
Consenso	(3701)		3800
		3751	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3352)	CGGGTGAAGTTCAGCCGGTCCGCCGACG	
CD19Rop_epHIV7	(3639)	-----GGGTGAAGTTCAGCCGGTCCGCCGACG	
Consenso	(3751)	GGGTGAAGTTCAGCCGGTCCGCCGACG	3850
		3801	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3402)	CCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTG	
CD19Rop_epHIV7	(3666)	CCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTG	
Consenso	(3801)	CCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTG	3900
		3851	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3452)	GGCAGGCGGGAGGAATACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCCGGGACCC	
CD19Rop_epHIV7	(3716)	GGCAGGCGGGAGGAATACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCCGGGACCC	
Consenso	(3851)	GGCAGGCGGGAGGAATACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCCGGGACCC	

ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

		3901		3950
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3502)	TGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCC	CAGGAAGGCCTGTATA	
CD19Rop_epHIV7	(3766)	TGAGATGGGCGGCAAGCCCAGGCGGAAGAACCC	CAGGAAGGCCTGTATA	
Consenso	(3901)	TGAGATGGGCGGCAAGCC	GGCGGAAGAACCC CAGGAAGGCCTGTATA	
		3951		4000
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3552)	ACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCC	TACAGCGAGATCGGCATG	
CD19Rop_epHIV7	(3816)	ACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCC	TACAGCGAGATCGGCATG	
Consenso	(3951)	ACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCC	TACAGCGAGATCGGCATG	
		4001		4050
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3602)	AAGGGCGAGCGGAGGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCT		
CD19Rop_epHIV7	(3866)	AAGGGCGAGCGGCGGAGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCT		
Consenso	(4001)	AAGGGCGAGCGG GG GGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCT		
		4051		4100
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3652)	GTCCACCGCCACCAAGGATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGC		
CD19Rop_epHIV7	(3916)	GAGCACCGCCACCAAGGATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGC		
Consenso	(4051)	G CACCGCCACCAAGGATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGC		
		4101		4150
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3702)	CCCCAAGG		
CD19Rop_epHIV7	(3966)	CCCC-----		
Consenso	(4101)	CCCC		
		4151		4200
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3752)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4151)			
		4201		4250
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3802)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4201)			
		4251		4300
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3852)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4251)			
		4301		4350
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3902)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4301)			
		4351		4400
IL13 (EQ) 41BBzeta	(3952)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4351)			
		4401		4450
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4002)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4401)			
		4451		4500
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4052)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4451)			
		4501		4550
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4102)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4501)			
		4551		4600
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4152)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		

ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

Consenso	(4551)	4601		4650
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4202)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4601)			
		4651		4700
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4252)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----		
Consenso	(4651)			
		4701		4750
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4302)			
CD19Rop_epHIV7	(3970)	-----	C	AGG
Consenso	(4701)		C	AGG
		4751		4800
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4352)			
CD19Rop_epHIV7	(3974)	-----	T	
Consenso	(4751)			
		4801		4850
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4402)			
CD19Rop_epHIV7	(3975)	-----		
Consenso	(4801)			
		4851		4900
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4452)			
CD19Rop_epHIV7	(3975)	-----		
Consenso	(4851)			
		4901		4950
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4502)			
CD19Rop_epHIV7	(3975)	-----		
Consenso	(4901)			
		4951		5000
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4552)			
CD19Rop_epHIV7	(3975)	-----		
Consenso	(4951)			
		5001		5050
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4602)			
CD19Rop_epHIV7	(3975)	-----		
Consenso	(5001)			
		5051		5100
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4652)			
CD19Rop_epHIV7	(3975)	-----		
Consenso	(5051)			
		5101		5150
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4702)			
CD19Rop_epHIV7	(3975)	-----		
Consenso	(5101)			
		5151		5200
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4752)	TCTAGACCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTTATCGATAATCAA		
CD19Rop_epHIV7	(3975)	-----GACCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTTATCGATAATCAA		
Consenso	(5151)	GACCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTTATCGATAATCAA		
		5201		5250
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4802)	CCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGT		
CD19Rop_epHIV7	(4019)	CCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGT		
Consenso	(5201)	CCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGT		
		5251		5300
IL13 (EQ) 41BBzeta	(4852)	TGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATG		

# ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

CD19Rop_epHIV7	(4069)	TGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATG	
Consenso	(5251)	TGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATG	
		5301	5350
IL13 (EQ) 41BBZeta	(4902)	CTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGG	
CD19Rop_epHIV7	(4119)	CTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGG	
Consenso	(5301)	CTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGG	
		5351	5400
IL13 (EQ) 41BBZeta	(4952)	TTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGT	
CD19Rop_epHIV7	(4169)	TTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGT	
Consenso	(5351)	TTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGT	
		5401	5450
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5002)	GGTGTGCACTGTGTTTGTCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCA	
CD19Rop_epHIV7	(4219)	GGTGTGCACTGTGTTTGTCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCA	
Consenso	(5401)	GGTGTGCACTGTGTTTGTCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCA	
		5451	5500
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5052)	CCACCTGTCAGTCCCTTTCGGGACTTTCGCTTCCCCCTCCCTATTGCC	
CD19Rop_epHIV7	(4269)	CCACCTGTCAGTCCCTTTCGGGACTTTCGCTTCCCCCTCCCTATTGCC	
Consenso	(5451)	CCACCTGTCAGTCCCTTTCGGGACTTTCGCTTCCCCCTCCCTATTGCC	
		5501	5550
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5102)	ACGGCGGAACACTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCG	
CD19Rop_epHIV7	(4319)	ACGGCGGAACACTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCG	
Consenso	(5501)	ACGGCGGAACACTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCG	
		5551	5600
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5152)	GCTGTTGGGCACGACAATTCGGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCTT	
CD19Rop_epHIV7	(4369)	GCTGTTGGGCACGACAATTCGGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCTT	
Consenso	(5551)	GCTGTTGGGCACGACAATTCGGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCTT	
		5601	5650
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5202)	TTCCTTGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCC	
CD19Rop_epHIV7	(4419)	TTCCTTGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCC	
Consenso	(5601)	TTCCTTGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCC	
		5651	5700
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5252)	TTCTGTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTCCCCGCG	
CD19Rop_epHIV7	(4469)	TTCTGTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTCCCCGCG	
Consenso	(5651)	TTCTGTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCCTCCCCGCG	
		5701	5750
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5302)	CCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGA	
CD19Rop_epHIV7	(4519)	CCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGA	
Consenso	(5701)	CCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGA	
		5751	5800
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5352)	CGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCCTCCCCGCATCGATAACCGTCGACTA	
CD19Rop_epHIV7	(4569)	CGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCCTCCCCGCATCGATAACCGTCGACTA	
Consenso	(5751)	CGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCCTCCCCGCATCGATAACCGTCGACTA	
		5801	5850
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5402)	GCCGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCA	
CD19Rop_epHIV7	(4619)	GCCGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCA	
Consenso	(5801)	GCCGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCA	
		5851	5900
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5452)	CTTTTTAAAAGAAAAGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCACCTCCCAAAGAA	
CD19Rop_epHIV7	(4669)	CTTTTTAAAAGAAAAGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCACCTCCCAAAGAA	
Consenso	(5851)	CTTTTTAAAAGAAAAGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCACCTCCCAAAGAA	
		5901	5950
IL13 (EQ) 41BBZeta	(5502)	GACAAGATCTGCTTTTTCCTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATC	
CD19Rop_epHIV7	(4719)	GACAAGATCTGCTTTTTCCTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATC	
Consenso	(5901)	GACAAGATCTGCTTTTTCCTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATC	
		5951	6000

# ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

IL13 (EQ) 41BBzeta	(5552)	TGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCA
CD19Rop_epHIV7	(4769)	TGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCA
Consenso	(5951)	TGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCA 6001 6050
IL13 (EQ) 41BBzeta	(5602)	ATAAAGCTTGCCCTTGAGTGCCTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTG
CD19Rop_epHIV7	(4819)	ATAAAGCTTGCCCTTGAGTGCCTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTG
Consenso	(6001)	ATAAAGCTTGCCCTTGAGTGCCTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTG 6051 6100
IL13 (EQ) 41BBzeta	(5652)	ACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATC
CD19Rop_epHIV7	(4869)	ACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATC
Consenso	(6051)	ACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATC 6101 6150
IL13 (EQ) 41BBzeta	(5702)	TCTAGCAGAATTCGATATCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGG
CD19Rop_epHIV7	(4919)	TCTAGCAGAATTCGATATCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGG
Consenso	(6101)	TCTAGCAGAATTCGATATCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGG 6151 6200
IL13 (EQ) 41BBzeta	(5752)	GGCCCGGTACCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACAATTCACTGGC
CD19Rop_epHIV7	(4969)	GGCCCGGTACCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACAATTCACTGGC
Consenso	(6151)	GGCCCGGTACCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACAATTCACTGGC 6201 6250
IL13 (EQ) 41BBzeta	(5802)	CGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCTGGCGTTACCCAACCTTA
CD19Rop_epHIV7	(5019)	CGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCTGGCGTTACCCAACCTTA
Consenso	(6201)	CGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCTGGCGTTACCCAACCTTA 6251 6300
IL13 (EQ) 41BBzeta	(5852)	ATCGCCTTGCGAGCACATCCCCCTTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAG
CD19Rop_epHIV7	(5069)	ATCGCCTTGCGAGCACATCCCCCTTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAG
Consenso	(6251)	ATCGCCTTGCGAGCACATCCCCCTTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAG 6301 6350
IL13 (EQ) 41BBzeta	(5902)	GCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATG
CD19Rop_epHIV7	(5119)	GCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATG
Consenso	(6301)	GCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATG 6351 6400
IL13 (EQ) 41BBzeta	(5952)	GAAATTGTAAGCGTTAATATTTTGTAAAAATTCGCGTTAAATTTTTGTTA
CD19Rop_epHIV7	(5169)	GAAATTGTAAGCGTTAATATTTTGTAAAAATTCGCGTTAAATTTTTGTTA
Consenso	(6351)	GAAATTGTAAGCGTTAATATTTTGTAAAAATTCGCGTTAAATTTTTGTTA 6401 6450
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6002)	AATCAGCTCATTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGCAAAATCCCTTATA
CD19Rop_epHIV7	(5219)	AATCAGCTCATTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGCAAAATCCCTTATA
Consenso	(6401)	AATCAGCTCATTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGCAAAATCCCTTATA 6451 6500
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6052)	AATCAAAAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAGTGTGTTCCAGTTTGGAAC
CD19Rop_epHIV7	(5269)	AATCAAAAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAGTGTGTTCCAGTTTGGAAC
Consenso	(6451)	AATCAAAAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAGTGTGTTCCAGTTTGGAAC 6501 6550
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6102)	AAGAGTCCACTATTAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAAC
CD19Rop_epHIV7	(5319)	AAGAGTCCACTATTAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAAC
Consenso	(6501)	AAGAGTCCACTATTAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAAC 6551 6600
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6152)	CGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACCTAATCAAGTT
CD19Rop_epHIV7	(5369)	CGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACCTAATCAAGTT
Consenso	(6551)	CGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACCTAATCAAGTT 6601 6650
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6202)	TTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCTAAAGGGAGC
CD19Rop_epHIV7	(5419)	TTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCTAAAGGGAGC
Consenso	(6601)	TTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCTAAAGGGAGC

FIGURA 15 (cont)

		6651	6700
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6252)	CCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGA	
CD19Rop_epHIV7	(5469)	CCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGA	
Consenso	(6651)	CCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGA	
		6701	6750
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6302)	AGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGG	
CD19Rop_epHIV7	(5519)	AGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGG	
Consenso	(6701)	AGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGG	
		6751	6800
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6352)	TCACGCTGCGCGTAACCACCACACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAG	
CD19Rop_epHIV7	(5569)	TCACGCTGCGCGTAACCACCACACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAG	
Consenso	(6751)	TCACGCTGCGCGTAACCACCACACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAG	
		6801	6850
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6402)	GGCGCGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG	
CD19Rop_epHIV7	(5619)	GGCGCGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG	
Consenso	(6801)	GGCGCGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG	
		6851	6900
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6452)	TTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAAC	
CD19Rop_epHIV7	(5669)	TTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAAC	
Consenso	(6851)	TTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAAC	
		6901	6950
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6502)	CCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAA	
CD19Rop_epHIV7	(5719)	CCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAA	
Consenso	(6901)	CCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAA	
		6951	7000
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6552)	CATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCTCTGT	
CD19Rop_epHIV7	(5769)	CATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCTCTGT	
Consenso	(6951)	CATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCTCTGT	
		7001	7050
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6602)	TTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT	
CD19Rop_epHIV7	(5819)	TTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT	
Consenso	(7001)	TTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT	
		7051	7100
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6652)	TGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATC	
CD19Rop_epHIV7	(5869)	TGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATC	
Consenso	(7051)	TGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATC	
		7101	7150
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6702)	CTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAA	
CD19Rop_epHIV7	(5919)	CTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAA	
Consenso	(7101)	CTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAA	
		7151	7200
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6752)	AGTTCTGCTATGTGGCGCGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGC	
CD19Rop_epHIV7	(5969)	AGTTCTGCTATGTGGCGCGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGC	
Consenso	(7151)	AGTTCTGCTATGTGGCGCGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGC	
		7201	7250
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6802)	AACTCGGTGCGCGCATACTACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCA	
CD19Rop_epHIV7	(6019)	AACTCGGTGCGCGCATACTACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCA	
Consenso	(7201)	AACTCGGTGCGCGCATACTACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCA	
		7251	7300
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6852)	CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG	
CD19Rop_epHIV7	(6069)	CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG	
Consenso	(7251)	CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATG	
		7301	7350
IL13 (EQ) 41BBzeta	(6902)	CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACAACGCGCAACTTACTTCTGA	
CD19Rop_epHIV7	(6119)	CAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACAACGCGCAACTTACTTCTGA	

FIGURA 15 (cont)

	Consenso	(7301)	CAGTGTGCCATAACCATGAGTGATAAACTGCGGCCAACTTACTTCTGA	
			7351	7400
IL13 (EQ) 41BBzeta		(6952)	CAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGG	
CD19Rop_epHIV7		(6169)	CAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGG	
	Consenso	(7351)	CAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGG	
			7401	7450
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7002)	GATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT	
CD19Rop_epHIV7		(6219)	GATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT	
	Consenso	(7401)	GATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT	
			7451	7500
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7052)	ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGT	
CD19Rop_epHIV7		(6269)	ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGT	
	Consenso	(7451)	ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGT	
			7501	7550
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7102)	TGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAA	
CD19Rop_epHIV7		(6319)	TGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAA	
	Consenso	(7501)	TGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAA	
			7551	7600
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7152)	TTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTC	
CD19Rop_epHIV7		(6369)	TTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTC	
	Consenso	(7551)	TTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTC	
			7601	7650
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7202)	GGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC	
CD19Rop_epHIV7		(6419)	GGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC	
	Consenso	(7601)	GGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC	
			7651	7700
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7252)	GTGGGTCTCGCGGTATCATTCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCC	
CD19Rop_epHIV7		(6469)	GTGGGTCTCGCGGTATCATTCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCC	
	Consenso	(7651)	GTGGGTCTCGCGGTATCATTCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCC	
			7701	7750
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7302)	CGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACG	
CD19Rop_epHIV7		(6519)	CGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACG	
	Consenso	(7701)	CGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACG	
			7751	7800
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7352)	AAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAC	
CD19Rop_epHIV7		(6569)	AAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAC	
	Consenso	(7751)	AAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAC	
			7801	7850
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7402)	TGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCAT	
CD19Rop_epHIV7		(6619)	TGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCAT	
	Consenso	(7801)	TGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCAT	
			7851	7900
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7452)	TTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGAC	
CD19Rop_epHIV7		(6669)	TTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGAC	
	Consenso	(7851)	TTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGAC	
			7901	7950
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7502)	CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAG	
CD19Rop_epHIV7		(6719)	CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAG	
	Consenso	(7901)	CAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAG	
			7951	8000
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7552)	AAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGC	
CD19Rop_epHIV7		(6769)	AAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGC	
	Consenso	(7951)	AAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGC	
			8001	8050
IL13 (EQ) 41BBzeta		(7602)	TGCTTGCAAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTCGCCGA	



# ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

CD19Rop_epHIV7	(6819)	TGCTTGCAAACAAAAAACACCAGCTACCAGCGGTGGTTTGGTTTGC	CGGA
Consenso	(8001)	TGCTTGCAAACAAAAAACACCAGCTACCAGCGGTGGTTTGGTTTGC	CGGA
IL13 (EQ) 41BBzeta	(7652)	TCAAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAGGTAAC	TGGCTTCAGCAGAGCGC
CD19Rop_epHIV7	(6869)	TCAAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAGGTAAC	TGGCTTCAGCAGAGCGC
Consenso	(8051)	TCAAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAGGTAAC	TGGCTTCAGCAGAGCGC
IL13 (EQ) 41BBzeta	(7702)	AGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTC	
CD19Rop_epHIV7	(6919)	AGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTC	
Consenso	(8101)	AGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTC	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(7752)	AAGAACTCTGTAGCACCGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACC	
CD19Rop_epHIV7	(6969)	AAGAACTCTGTAGCACCGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACC	
Consenso	(8151)	AAGAACTCTGTAGCACCGCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACC	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(7802)	AGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTACC	GGTTGGACTCAA
CD19Rop_epHIV7	(7019)	AGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTACC	GGTTGGACTCAA
Consenso	(8201)	AGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTACC	GGTTGGACTCAA
IL13 (EQ) 41BBzeta	(7852)	GACGATAGTTACC	GGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTTCG
CD19Rop_epHIV7	(7069)	GACGATAGTTACC	GGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTTCG
Consenso	(8251)	GACGATAGTTACC	GGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTTCG
IL13 (EQ) 41BBzeta	(7902)	TGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCT	
CD19Rop_epHIV7	(7119)	TGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCT	
Consenso	(8301)	TGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCT	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(7952)	ACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGG	
CD19Rop_epHIV7	(7169)	ACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGG	
Consenso	(8351)	ACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGG	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8002)	ACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG	
CD19Rop_epHIV7	(7219)	ACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG	
Consenso	(8401)	ACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8052)	CTTCCAGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCA	
CD19Rop_epHIV7	(7269)	CTTCCAGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCA	
Consenso	(8451)	CTTCCAGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCA	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8102)	CCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCC	
CD19Rop_epHIV7	(7319)	CCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCC	
Consenso	(8501)	CCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCC	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8152)	TATGGAAAAACGCCAGCAACGCGCCTTTTACGGTTCC	TGGCCTTTTGC
CD19Rop_epHIV7	(7369)	TATGGAAAAACGCCAGCAACGCGCCTTTTACGGTTCC	TGGCCTTTTGC
Consenso	(8551)	TATGGAAAAACGCCAGCAACGCGCCTTTTACGGTTCC	TGGCCTTTTGC
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8202)	TGGCCTTTTGTCTACATGTTCTTTCCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGA	
CD19Rop_epHIV7	(7419)	TGGCCTTTTGTCTACATGTTCTTTCCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGA	
Consenso	(8601)	TGGCCTTTTGTCTACATGTTCTTTCCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGA	
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8252)	TAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGAGCCGAA	
CD19Rop_epHIV7	(7469)	TAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGAGCCGAA	
Consenso	(8651)	TAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGAGCCGAA	

# ES 2 876 235 T3

FIGURA 15 (cont)

IL13 (EQ) 41BBzeta	(8302)	CGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATA
CD19Rop_epHIV7	(7519)	CGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATA
Consenso	(8701)	CGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATA 8751 8800
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8352)	CGCAAACCGCCTCTCCCCGCGGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCA
CD19Rop_epHIV7	(7569)	CGCAAACCGCCTCTCCCCGCGGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCA
Consenso	(8751)	CGCAAACCGCCTCTCCCCGCGGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCA 8801 8850
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8402)	CGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATG
CD19Rop_epHIV7	(7619)	CGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATG
Consenso	(8801)	CGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATG 8851 8900
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8452)	TGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTCCG
CD19Rop_epHIV7	(7669)	TGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTCCG
Consenso	(8851)	TGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTCCG 8901 8950
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8502)	GCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAA
CD19Rop_epHIV7	(7719)	GCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAA
Consenso	(8901)	GCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAA 8951 9000
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8552)	CAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCGAAATTAACCCCTACTAAAGGG
CD19Rop_epHIV7	(7769)	CAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCGAAATTAACCCCTACTAAAGGG
Consenso	(8951)	CAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCGAAATTAACCCCTACTAAAGGG 9001 9050
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8602)	AACAAAAGCTGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCCTCGAGGTCGAGATCCGG
CD19Rop_epHIV7	(7819)	AACAAAAGCTGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCCTCGAGGTCGAGATCCGG
Consenso	(9001)	AACAAAAGCTGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCCTCGAGGTCGAGATCCGG 9051 9100
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8652)	TCGACCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACCTCCGCCATCCCGCCCCATA
CD19Rop_epHIV7	(7869)	TCGACCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACCTCCGCCATCCCGCCCCATA
Consenso	(9051)	TCGACCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACCTCCGCCATCCCGCCCCATA 9101 9150
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8702)	CTCCGCCAGTTCGCCCATCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTT
CD19Rop_epHIV7	(7919)	CTCCGCCAGTTCGCCCATCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTT
Consenso	(9101)	CTCCGCCAGTTCGCCCATCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTT 9151 9200
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8752)	ATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCTCTGAGCTATTCCAGAAGTA
CD19Rop_epHIV7	(7969)	ATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCTCTGAGCTATTCCAGAAGTA
Consenso	(9151)	ATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCTCTGAGCTATTCCAGAAGTA 9201 9250
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8802)	GTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTCGACGGT
CD19Rop_epHIV7	(8019)	GTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTCGACGGT
Consenso	(9201)	GTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTCGACGGT 9251 9300
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8852)	ATCGATTGGCTCATGTCCAACATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGA
CD19Rop_epHIV7	(8069)	ATCGATTGGCTCATGTCCAACATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGA
Consenso	(9251)	ATCGATTGGCTCATGTCCAACATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGA 9301 9350
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8902)	CTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTTCATAGCCCATAT
CD19Rop_epHIV7	(8119)	CTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTTCATAGCCCATAT
Consenso	(9301)	CTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTTCATAGCCCATAT 9351 9400
IL13 (EQ) 41BBzeta	(8952)	ATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACC
CD19Rop_epHIV7	(8169)	ATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACC
Consenso	(9351)	ATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACC

FIGURA 15 (cont)

		9401		9450
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9002)	GCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAG		
CD19Rop_epHIV7	(8219)	GCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAG		
Consenso	(9401)	GCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAG		
		9451		9500
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9052)	TAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGG		
CD19Rop_epHIV7	(8269)	TAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGG		
Consenso	(9451)	TAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGG		
		9501		9550
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9102)	TAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCC		
CD19Rop_epHIV7	(8319)	TAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCC		
Consenso	(9501)	TAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCC		
		9551		9600
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9152)	CCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCCAGT		
CD19Rop_epHIV7	(8369)	CCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCCAGT		
Consenso	(9551)	CCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCCAGT		
		9601		9650
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9202)	ACATGACCTTATGGGACTTTCTTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTC		
CD19Rop_epHIV7	(8419)	ACATGACCTTATGGGACTTTCTTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTC		
Consenso	(9601)	ACATGACCTTATGGGACTTTCTTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTC		
		9651		9700
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9252)	ATCGCTATTACCATGGTGTATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGG		
CD19Rop_epHIV7	(8469)	ATCGCTATTACCATGGTGTATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGG		
Consenso	(9651)	ATCGCTATTACCATGGTGTATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGG		
		9701		9750
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9302)	ATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTTGACGTCA		
CD19Rop_epHIV7	(8519)	ATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTTGACGTCA		
Consenso	(9701)	ATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTTGACGTCA		
		9751		9800
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9352)	ATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGT		
CD19Rop_epHIV7	(8569)	ATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGT		
Consenso	(9751)	ATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGT		
		9801		9850
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9402)	AACAACCTCCGCCCATTTGACGCAAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGAATTC		
CD19Rop_epHIV7	(8619)	AACAACCTCCGCCCATTTGACGCAAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGAATTC		
Consenso	(9801)	AACAACCTCCGCCCATTTGACGCAAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGAATTC		
		9851		9900
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9452)	GGAGTGGCGAGCCCTCAGATCCTGCATATAAGCAGCTGCTTTTTGCCTGT		
CD19Rop_epHIV7	(8669)	GGAGTGGCGAGCCCTCAGATCCTGCATATAAGCAGCTGCTTTTTGCCTGT		
Consenso	(9851)	GGAGTGGCGAGCCCTCAGATCCTGCATATAAGCAGCTGCTTTTTGCCTGT		
		9901		9914
IL13 (EQ) 41BBzeta	(9502)	ACTGGGTCTCTCTG		
CD19Rop_epHIV7	(8719)	ACTGGGTCTCTCTG		
Consenso	(9901)	ACTGGGTCTCTCTG		