

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una población de células seleccionada de origen hematopoyético para la administración a un sujeto que comprende:

obtener una muestra del sujeto donde la muestra comprende una mezcla heterogénea de células
5 que incluye una población de células seleccionada de origen hematopoyético;

exponer la muestra a un nanoportador sintético que comprende

(i) un ácido nucleico sintético encapsulado dentro de un portador con carga positiva donde el ácido nucleico sintético codifica un agente de edición de genes o una proteína que altera el fenotipo;

(ii) un recubrimiento con carga neutra o negativa en la superficie externa del portador; y

10 (iii) un ligando dirigido a células seleccionadas que se extiende desde la superficie del recubrimiento;

donde la exposición produce la administración selectiva del nanoportador a la población de células seleccionada que produce una modificación de las células dentro de la población de células seleccionada; y células que se expanden dentro de la muestra;

15 mediante lo cual se prepara la población de células seleccionada para la administración al sujeto.

2. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los linfocitos dentro de una población celular heterogénea e inicia la endocitosis inducida por el receptor.

3. Un método de la reivindicación 1 donde las células expandidas dentro de la muestra
20 incluyen células modificadas de la población de células seleccionada.

4. Un método de la reivindicación 1 que además comprende la formulación de la población de células seleccionada preparada en una composición a base de células.

5. Un método de la reivindicación 4 que además comprende administrar la composición a base de células al sujeto.

25 6. Un método de la reivindicación 1 donde no se realizan etapas de aislamiento o solo se realizan etapas de aislamiento limitado para aumentar el porcentaje de la población de células seleccionada en la mezcla heterogénea de células antes de la exposición.

7. Un método de la reivindicación 1 donde el ácido nucleico sintético codifica un agente de edición de genes seleccionado de nucleasas efectoras similares al activador de la transcripción (TALEN); megaTAL, y/o nucleasas de dedos de zinc.
30

8. Un método de la reivindicación 7 donde el ácido nucleico sintético codifica una megaTAL de SEQ ID NO: 1.

9. Un método de la reivindicación 1 donde el agente de edición de genes altera los genes endógenos codificantes de fosfatasa Shp-1, receptor de PD1, receptores de linfocitos T (TCR),
35 CCR5 y/o CXCR4.

10. Un método de la reivindicación 1 donde el agente de edición de genes altera los genes

endógenos codificantes de cadenas de TCR α .

11. Un método de la reivindicación 1 donde el ácido nucleico sintético codifica una proteína que altera el fenotipo seleccionada de un factor de transcripción, una cinasa y/o un receptor de superficie celular.

5 12. Un método de la reivindicación 10 donde la proteína que altera el fenotipo se selecciona de FOXO1, LKB1, TCF7, EOMES, ID2, TERT, CCR2b y/o CCR4.

13. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los linfocitos dentro de una población celular heterogénea e inicia la endocitosis inducida por el receptor.

10 14. Un método de la reivindicación 13 donde la población celular heterogénea es un cultivo celular ex vivo.

15. Un método de la reivindicación 13 donde la población celular heterogénea es in vivo.

16. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los linfocitos T, linfocitos NK, monocitos, macrófagos, células dendríticas,
15 linfocitos B, células madre hematopoyéticas o una combinación de estos.

17. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un ligando del receptor de linfocitos, un anticuerpo del receptor de linfocitos, un aptámero peptídico del receptor de linfocitos, un aptámero de ácido nucleico del receptor de linfocitos, un spiegelmer del receptor de linfocitos o una
20 combinación de estos.

18. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los motivos del receptor de linfocitos T; las cadenas α de linfocitos T; las cadenas β de linfocitos T; las cadenas γ de linfocitos T; las cadenas δ de linfocitos T; CCR7; CD1a; CD1b; CD1c; CD1d; CD3; CD4; CD5; CD7; CD8; CD11b; CD11c; CD16; CD19; CD20; CD21; CD22;
25 CD25; CD28; CD34; CD35; CD39; CD40; CD45RA; CD45RO; CD46; CD52; CD56; CD62L; CD68; CD69; CD80; CD86; CD95; CD101; CD117; CD127; CD133; CD137 (4-1BB); CD148; CD163; CD209; DEC-205; F4/80; IL-4R α ; Sca-1; CTLA-4; GITR; GARP; LAP; granzima B; LFA-1; o receptor de transferrina.

19. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a CD1a; CD1b; CD1c; CD1d; CCR7; CD3; CD4; CD5; CD8; CD16; CD19; CD20;
30 CD21; CD22; CD25; CD28; CD35; CD40; CD45RA; CD45RO; CD46; CD52; CD69; CD62L; CD80; CD95; CD127; CD137; CD209, o DEC-205.

20. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo de cadena α de linfocitos T; un anticuerpo de cadena β de linfocitos T; un anticuerpo de cadena γ de linfocitos T; un anticuerpo de
35

cadena δ de linfocitos T; un anticuerpo CCR7; un anticuerpo CD1a; un anticuerpo CD1b; un anticuerpo CD1c; un anticuerpo CD1d; un anticuerpo CD3; un anticuerpo CD4; un anticuerpo CD5; un anticuerpo CD7; un anticuerpo CD8; un anticuerpo CD11b; un anticuerpo CD11c; un anticuerpo CD16; un anticuerpo CD19; un anticuerpo CD20; un anticuerpo CD21; un anticuerpo CD22; un anticuerpo CD25; un anticuerpo CD28; un anticuerpo CD34; un anticuerpo CD35; un anticuerpo CD39; un anticuerpo CD40; un anticuerpo CD45RA; un anticuerpo CD45RO; un anticuerpo CD46; un anticuerpo CD52; un anticuerpo CD56; un anticuerpo CD62L; un anticuerpo CD68; un anticuerpo CD69; un anticuerpo CD80; un anticuerpo CD86; un anticuerpo CD95; un anticuerpo CD101; un anticuerpo CD117; un anticuerpo CD127; un anticuerpo CD133; un anticuerpo CD137 (4-1BB); un anticuerpo CD148; un anticuerpo CD163; un anticuerpo CD209; un anticuerpo DEC-205; un anticuerpo F4/80; un anticuerpo IL-4R α ; un anticuerpo Sca-1; un anticuerpo CTLA-4; un anticuerpo GITR; un anticuerpo GARP; un anticuerpo LAP; un anticuerpo de granzima B; un anticuerpo LFA-1; o un anticuerpo del receptor de transferrina.

21. Un método de la reivindicación 1 donde el dominio de unión consiste o consiste esencialmente en un fragmento scFv de un anticuerpo de cadena α de linfocitos T; un anticuerpo de cadena β de linfocitos T; un anticuerpo de cadena γ de linfocitos T; un anticuerpo de cadena δ de linfocitos T; un anticuerpo CCR7; un anticuerpo CD1a; un anticuerpo CD1b; un anticuerpo CD1c; un anticuerpo CD1d; un anticuerpo CD3; un anticuerpo CD4; un anticuerpo CD5; un anticuerpo CD7; un anticuerpo CD8; un anticuerpo CD11b; un anticuerpo CD11c; un anticuerpo CD16; un anticuerpo CD19; un anticuerpo CD20; un anticuerpo CD21; un anticuerpo CD22; un anticuerpo CD25; un anticuerpo CD28; un anticuerpo CD34; un anticuerpo CD35; un anticuerpo CD39; un anticuerpo CD40; un anticuerpo CD45RA; un anticuerpo CD45RO; un anticuerpo CD46; un anticuerpo CD52; un anticuerpo CD56; un anticuerpo CD62L; un anticuerpo CD68; un anticuerpo CD69; un anticuerpo CD80; un anticuerpo CD86; un anticuerpo CD95; un anticuerpo CD101; un anticuerpo CD117; un anticuerpo CD127; un anticuerpo CD133; un anticuerpo CD137 (4-1BB); un anticuerpo CD148; un anticuerpo CD163; un anticuerpo CD209; un anticuerpo DEC-205; un anticuerpo F4/80; un anticuerpo IL-4R α ; un anticuerpo Sca-1; un anticuerpo CTLA-4; un anticuerpo GITR; un anticuerpo GARP; un anticuerpo LAP; un anticuerpo de granzima B; un anticuerpo LFA-1; o un anticuerpo del receptor de transferrina.

22. Un método de la reivindicación 1 donde el ácido nucleico sintético es ARNm sintético.

23. Un método de la reivindicación 1 donde el portador comprende un lípido o polímero con carga positiva.

24. Un método de la reivindicación 22 donde el polímero con carga positiva comprende poli(β -amino éster), poli(L-lisina), poli(etilenimina) (PEI), dendrímeros de poli-(amidoamina) (PAMAM), poli(amina-co-ésteres), metacrilato de poli(dimetilaminoetilo) (PDMAEMA), quitosán, poli-(L-láctido-

co-L-lisina), ácido poli[α -(4-aminobutil)-L-glicólico] (PAGA) o poli(4-hidroxi-L-prolina éster) (PHP).

25. Un método de la reivindicación 1 donde el recubrimiento comprende un lípido o polímero con carga neutra o negativa.

26. Un método de la reivindicación 24 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende ácido poliglutámico (PGA), ácido poli(acrílico), ácido algínico o hemisuccinato de coleserilo/1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina.

27. Un método de la reivindicación 24 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende un polímero zwitteriónico.

28. Un método de la reivindicación 24 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende un liposoma.

29. Un método de la reivindicación 27 donde el liposoma comprende 1,2-dioleoil-3-trimetilamonio-propano (DOTAP), 1,2-di-O-octadecenil-3-trimetilamonio propano (DOTMA), 3 β -[N-(N',N'-dimetilaminoetano)-carbamoil]colesterol (DC-Chol), dioctadecil-amidoglicilespermina (DOGS), colesterol, 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) o 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC).

30. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a CD4 y/o CD8.

31. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8.

32. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un fragmento scFv de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8.

33. Un método de la reivindicación 1 donde el portador comprende poli(β -amino éster).

34. Un método de la reivindicación 1 donde el recubrimiento comprende ácido poliglutámico (PGA).

35. Un método de la reivindicación 1 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8; el portador comprende poli(β -amino éster); y el recubrimiento comprende ácido poliglutámico (PGA).

36. Un método para preparar células para tratar a un sujeto que comprende:

obtener linfocitos de un sujeto;

combinar los linfocitos con un nanoportador sintético que comprende

(i) un ácido nucleico sintético encapsulado dentro de un portador con carga positiva donde el ácido nucleico sintético codifica un agente de edición de genes o una proteína que altera el fenotipo;

(ii) un recubrimiento con carga neutra o negativa en la superficie externa del portador; y

(iii) un ligando dirigido a células seleccionadas que se extiende desde la superficie del

recubrimiento;

donde después de la combinación, los nanoportadores se incorporan selectivamente en los linfocitos de modo que los linfocitos expresen transitoriamente el ácido nucleico.

37. Un método de la reivindicación 35 que además comprende expandir los linfocitos.

5 38. Un método de la reivindicación 35 que además comprende la formulación de los linfocitos en una composición a base de células.

39. Un método de la reivindicación 35 donde no se realizan etapas de aislamiento o solo se realizan etapas de aislamiento limitado para aumentar el porcentaje de la población de células seleccionada en la mezcla heterogénea de células antes de la exposición.

10 40. Un método de la reivindicación 35 donde el ácido nucleico sintético codifica un agente de edición de genes seleccionado de nucleasas efectoras similares al activador de la transcripción (TALEN); megaTAL, y/o nucleasas de dedos de zinc.

41. Un método de la reivindicación 35 donde el ácido nucleico sintético codifica una megaTAL de SEQ ID NO: 1.

15 42. Un método de la reivindicación 35 donde los agentes de edición de genes alteran los genes endógenos codificantes de fosfatasa Shp-1, receptor de PD1, receptores de linfocitos T (TCR), CCR5 y/o CXCR4.

43. Un método de la reivindicación 35 donde los agentes de edición de genes alteran los genes endógenos codificantes de cadenas de TCR α .

20 44. Un método de la reivindicación 35 donde el ácido nucleico sintético codifica una proteína que altera el fenotipo seleccionada de un factor de transcripción, una cinasa y/o un receptor de superficie celular.

45. Un método de la reivindicación 35 donde la proteína que altera el fenotipo se selecciona de FOXO1, LKB1, TCF7, EOMES, ID2, TERT, CCR2b y/o CCR4.

25 46. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los linfocitos dentro de una población celular heterogénea.

47. Un método de la reivindicación 45 donde la población celular heterogénea es un cultivo celular ex vivo.

48. Un método de la reivindicación 45 donde la población celular heterogénea es in vivo.

30 49. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los linfocitos T, linfocitos NK, monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos B, células madre hematopoyéticas o una combinación de estos.

50. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un ligando del receptor de linfocitos, un anticuerpo del receptor de linfocitos, un aptámero peptídico del receptor de linfocitos, un aptámero

35

de ácido nucleico del receptor de linfocitos, un spiegelmer del receptor de linfocitos o una combinación de estos.

51. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los motivos del receptor de linfocitos T; las cadenas α de linfocitos T; las cadenas β de linfocitos T; las cadenas γ de linfocitos T; las cadenas δ de linfocitos T; CCR7; CD1a; CD1b; CD1c; CD1d; CD3; CD4; CD5; CD7; CD8; CD11b; CD11c; CD16; CD19; CD20; CD21; CD22; CD25; CD28; CD34; CD35; CD39; CD40; CD45RA; CD45RO; CD46; CD52; CD56; CD62L; CD68; CD69; CD80; CD86; CD95; CD101; CD117; CD127; CD133; CD137 (4-1BB); CD148; CD163; CD209; DEC-205; F4/80; IL-4R α ; Sca-1; CTLA-4; GITR; GARP; LAP; granzima B; LFA-1; o receptor de transferrina.

52. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a CD1a; CD1b; CD1c; CD1d; CCR7; CD3; CD4; CD5; CD8; CD16; CD19; CD20; CD21; CD22; CD25; CD28; CD35; CD40; CD45RA; CD45RO; CD46; CD52; CD62L; CD69; CD80; CD95; CD127; CD137; CD209, o DEC-205.

53. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo de cadena α de linfocitos T; un anticuerpo de cadena β de linfocitos T; un anticuerpo de cadena γ de linfocitos T; un anticuerpo de cadena δ de linfocitos T; un anticuerpo CCR7; un anticuerpo CD1a; un anticuerpo CD1b; un anticuerpo CD1c; un anticuerpo CD1d; un anticuerpo CD3; un anticuerpo CD4; un anticuerpo CD5; un anticuerpo CD7; un anticuerpo CD8; un anticuerpo CD11b; un anticuerpo CD11c; un anticuerpo CD16; un anticuerpo CD19; un anticuerpo CD20; un anticuerpo CD21; un anticuerpo CD22; un anticuerpo CD25; un anticuerpo CD28; un anticuerpo CD34; un anticuerpo CD35; un anticuerpo CD39; un anticuerpo CD40; un anticuerpo CD45RA; un anticuerpo CD45RO; un anticuerpo CD46; un anticuerpo CD52; un anticuerpo CD56; un anticuerpo CD62L; un anticuerpo CD68; un anticuerpo CD69; un anticuerpo CD80; un anticuerpo CD86; un anticuerpo CD95; un anticuerpo CD101; un anticuerpo CD117; un anticuerpo CD127; un anticuerpo CD133; un anticuerpo CD137 (4-1BB); un anticuerpo CD148; un anticuerpo CD163; un anticuerpo CD209; un anticuerpo DEC-205; un anticuerpo F4/80; un anticuerpo IL-4R α ; un anticuerpo Sca-1; un anticuerpo CTLA-4; un anticuerpo GITR; un anticuerpo GARP; un anticuerpo LAP; un anticuerpo de granzima B; un anticuerpo LFA-1; o un anticuerpo del receptor de transferrina.

54. Un método de la reivindicación 35 donde el dominio de unión consiste o consiste esencialmente en un fragmento scFv de un anticuerpo de cadena α de linfocitos T; un anticuerpo de cadena β de linfocitos T; un anticuerpo de cadena γ de linfocitos T; un anticuerpo de cadena δ de linfocitos T; un anticuerpo CCR7; un anticuerpo CD1a; un anticuerpo CD1b; un anticuerpo CD1c; un anticuerpo CD1d; un anticuerpo CD3; un anticuerpo CD4; un anticuerpo CD5; un

- anticuerpo CD7; un anticuerpo CD8; un anticuerpo CD11b; un anticuerpo CD11c; un anticuerpo CD16; un anticuerpo CD19; un anticuerpo CD20; un anticuerpo CD21; un anticuerpo CD22; un anticuerpo CD25; un anticuerpo CD28; un anticuerpo CD34; un anticuerpo CD35; un anticuerpo CD39; un anticuerpo CD40; un anticuerpo CD45RA; un anticuerpo CD45RO; un anticuerpo CD46;
- 5 un anticuerpo CD52; un anticuerpo CD56; un anticuerpo CD62L; un anticuerpo CD68; un anticuerpo CD69; un anticuerpo CD80; un anticuerpo CD86; un anticuerpo CD95; un anticuerpo CD101; un anticuerpo CD117; un anticuerpo CD127; un anticuerpo CD133; un anticuerpo CD137 (4-1BB); un anticuerpo CD148; un anticuerpo CD163; un anticuerpo CD209; un anticuerpo DEC-205; un anticuerpo F4/80; un anticuerpo IL-4R α ; un anticuerpo Sca-1; un anticuerpo CTLA-4; un
- 10 anticuerpo GITR; un anticuerpo GARP; un anticuerpo LAP; un anticuerpo de granzima B; un anticuerpo LFA-1; o un anticuerpo del receptor de transferrina.
55. Un método de la reivindicación 35 donde el ácido nucleico sintético es ARNm sintético.
56. Un método de la reivindicación 35 donde el portador comprende un lípido o polímero con carga positiva.
- 15 57. Un método de la reivindicación 55 donde el lípido o el polímero con carga positiva comprende poli(β -amino éster), poli(L-lisina), poli(etilenimina) (PEI), dendrímeros de poli(amidoamina) (PAMAM), poli(amina-co-ésteres), metacrilato de poli(dimetilaminoetilo) (PDMAEMA), quitosán, poli-(L-láctido-co-L-lisina), ácido poli[α -(4-aminobutil)-L-glicólico] (PAGA) o poli(4-hidroxi-L-prolina éster) (PHP).
- 20 58. Un método de la reivindicación 55 donde el recubrimiento comprende un lípido o polímero con carga neutra o negativa.
59. Un método de la reivindicación 57 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende ácido poliglutámico (PGA), ácido poli(acrílico), ácido algínico o hemisuccinato de colesteroil/1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina.
- 25 60. Un método de la reivindicación 57 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende un polímero zwitteriónico.
61. Un método de la reivindicación 57 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende un liposoma.
62. Un método de la reivindicación 60 donde el liposoma comprende 1,2-dioleoil-3-trimetilamonio-propano (DOTAP), 1,2-di-O-octadecenil-3-trimetilamonio propano (DOTMA), 3 β -[N-(N',N'-dimetilaminoetano)-carbamoil]colesterol (DC-Chol), dioctadecil-amidoglicilespermina (DOGS), colesterol, 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) o 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC).
- 30 63. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a CD4 y/o CD8.
- 35

64. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8.

65. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un fragmento scFv de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8.

66. Un método de la reivindicación 35 donde el portador comprende poli(β -amino éster).

67. Un método de la reivindicación 35 donde el recubrimiento comprende ácido poliglutámico (PGA).

68. Un método de la reivindicación 35 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8; el portador comprende poli(β -amino éster); y el recubrimiento comprende ácido poliglutámico (PGA).

69. Un método para tratar un sujeto que lo necesita que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de células modificadas por la expresión transitoria de un ácido nucleico que se administra selectivamente a las células por un nanoportador que comprende:

(i) el ácido nucleico encapsulado dentro de un portador con carga positiva donde el ácido nucleico sintético codifica un agente de edición de genes o una proteína que altera el fenotipo;

(ii) un recubrimiento con carga neutra o negativa en la superficie externa del portador; y

(iii) un ligando dirigido a células seleccionadas que se extiende desde la superficie del recubrimiento;

donde después de la combinación, los nanoportadores se incorporan selectivamente en los linfocitos de modo que los linfocitos expresen transitoriamente el ácido nucleico mediante lo cual se trata al sujeto que lo necesita.

70. Un método para preparar una población de células seleccionada para la administración a un sujeto que comprende:

obtener una muestra del sujeto donde la muestra comprende una mezcla heterogénea de células que incluye una población de células seleccionada;

exponer la muestra a un nanoportador sintético que comprende

(i) un ácido nucleico sintético encapsulado dentro de un portador con carga positiva donde el ácido nucleico sintético codifica un agente de edición de genes o una proteína que altera el fenotipo;

(ii) un recubrimiento con carga neutra o negativa en la superficie externa del portador; y

(iii) un ligando dirigido a células seleccionadas que se extiende desde la superficie del recubrimiento;

donde la exposición produce la administración selectiva del nanoportador a la población de células seleccionada que produce una modificación de las células dentro de la población de células seleccionada; y

células que se expanden dentro de la muestra;

mediante lo cual se prepara la población de células seleccionada para la administración al sujeto.

71. Un nanoportador sintético que comprende

(i) un ácido nucleico encapsulado dentro de un portador con carga positiva donde el ácido nucleico

codifica un agente de edición de genes o una proteína que altera el fenotipo;

(ii) un recubrimiento con carga neutra o negativa en la superficie externa del portador; y

(iii) un ligando dirigido a células seleccionadas que se extiende desde la superficie del recubrimiento;

72. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ácido nucleico sintético codifica

un agente de edición de genes seleccionado de nucleasas efectoras similares al activador de la transcripción (TALEN); megaTAL, y/o nucleasas de dedos de zinc.

73. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ácido nucleico sintético codifica una megaTAL de SEQ ID NO: 1.

74. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde los agentes de edición de genes

alteran los genes endógenos codificantes de fosfatasa Shp-1, receptor de PD1, receptores de linfocitos T (TCR), CCR5 y/o CXCR4.

75. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde los agentes de edición de genes alteran los genes endógenos codificantes de cadenas de TCR α .

76. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ácido nucleico sintético codifica

una proteína que altera el fenotipo seleccionada de un factor de transcripción, una cinasa y/o un receptor de superficie celular.

77. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde la proteína que altera el fenotipo se selecciona de FOXO1, LKB1, TCF7, EOMES, ID2, TERT, CCR2b y/o CCR4.

78. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células

seleccionadas se une selectivamente a los linfocitos dentro de una población celular heterogénea.

79. Un nanoportador sintético de la reivindicación 77 donde la población celular heterogénea es un cultivo celular ex vivo.

80. Un nanoportador sintético de la reivindicación 77 donde la población celular heterogénea es in vivo.

81. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los linfocitos T, linfocitos NK, monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos B, células madre hematopoyéticas o una combinación de estos.

82. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un ligando del receptor de linfocitos, un anticuerpo del receptor de linfocitos, un aptámero peptídico del receptor de linfocitos,

un aptámero de ácido nucleico del receptor de linfocitos, un spiegelmer del receptor de linfocitos o una combinación de estos.

83. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a los motivos del receptor de linfocitos T; las cadenas α de linfocitos T; las cadenas β de linfocitos T; las cadenas γ de linfocitos T; las cadenas δ de linfocitos T; CCR7; CD1a; CD1b; CD1c; CD1d; CD3; CD4; CD5; CD7; CD8; CD11b; CD11c; CD16; CD19; CD20; CD21; CD22; CD25; CD28; CD34; CD35; CD39; CD40; CD45RA; CD45RO; CD46; CD52; CD56; CD62L; CD68; CD69; CD80; CD86; CD95; CD101; CD117; CD127; CD133; CD137 (4-1BB); CD148; CD163; CD209; DEC-205; F4/80; IL-4R α ; Sca-1; CTLA-4; GITR; GARP; LAP; granzima B; LFA-1; o receptor de transferrina.

84. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células seleccionadas se une selectivamente a CD1a; CD1b; CD1c; CD1d; CCR7; CD3; CD4; CD5; CD8; CD16; CD19; CD20; CD21; CD22; CD25; CD28; CD35; CD40; CD45RA; CD45RO; CD46; CD52; CD62L; CD69; CD80; CD95; CD127; CD137; CD209, o DEC-205.

85. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo de cadena α de linfocitos T; un anticuerpo de cadena β de linfocitos T; un anticuerpo de cadena γ de linfocitos T; un anticuerpo de cadena δ de linfocitos T; un anticuerpo CCR7; un anticuerpo CD1a; un anticuerpo CD1b; un anticuerpo CD1c; un anticuerpo CD1d; un anticuerpo CD3; un anticuerpo CD4; un anticuerpo CD5; un anticuerpo CD7; un anticuerpo CD8; un anticuerpo CD11b; un anticuerpo CD11c; un anticuerpo CD16; un anticuerpo CD19; un anticuerpo CD20; un anticuerpo CD21; un anticuerpo CD22; un anticuerpo CD25; un anticuerpo CD28; un anticuerpo CD34; un anticuerpo CD35; un anticuerpo CD39; un anticuerpo CD40; un anticuerpo CD45RA; un anticuerpo CD45RO; un anticuerpo CD46; un anticuerpo CD52; un anticuerpo CD56; un anticuerpo CD62L; un anticuerpo CD68; un anticuerpo CD69; un anticuerpo CD80; un anticuerpo CD86; un anticuerpo CD95; un anticuerpo CD101; un anticuerpo CD117; un anticuerpo CD127; un anticuerpo CD133; un anticuerpo CD137 (4-1BB); un anticuerpo CD148; un anticuerpo CD163; un anticuerpo CD209; un anticuerpo DEC-205; un anticuerpo F4/80; un anticuerpo IL-4R α ; un anticuerpo Sca-1; un anticuerpo CTLA-4; un anticuerpo GITR; un anticuerpo GARP; un anticuerpo LAP; un anticuerpo de granzima B; un anticuerpo LFA-1; o un anticuerpo del receptor de transferrina.

86. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el dominio de unión consiste o consiste esencialmente en un fragmento scFv de un anticuerpo de cadena α de linfocitos T; un anticuerpo de cadena β de linfocitos T; un anticuerpo de cadena γ de linfocitos T; un anticuerpo de cadena δ de linfocitos T; un anticuerpo CCR7; un anticuerpo CD1a; un anticuerpo CD1b; un anticuerpo CD1c; un anticuerpo CD1d; un anticuerpo CD3; un anticuerpo CD4; un anticuerpo CD5;

un anticuerpo CD7; un anticuerpo CD8; un anticuerpo CD11b; un anticuerpo CD11c; un anticuerpo CD16; un anticuerpo CD19; un anticuerpo CD20; un anticuerpo CD21; un anticuerpo CD22; un anticuerpo CD25; un anticuerpo CD28; un anticuerpo CD34; un anticuerpo CD35; un anticuerpo CD39; un anticuerpo CD40; un anticuerpo CD45RA; un anticuerpo CD45RO; un anticuerpo CD46; un anticuerpo CD52; un anticuerpo CD56; un anticuerpo CD62L; un anticuerpo CD68; un anticuerpo CD69; un anticuerpo CD80; un anticuerpo CD86; un anticuerpo CD95; un anticuerpo CD101; un anticuerpo CD117; un anticuerpo CD127; un anticuerpo CD133; un anticuerpo CD137 (4-1BB); un anticuerpo CD148; un anticuerpo CD163; un anticuerpo CD209; un anticuerpo DEC-205; un anticuerpo F4/80; un anticuerpo IL-4R α ; un anticuerpo Sca-1; un anticuerpo CTLA-4; un anticuerpo GITR; un anticuerpo GARP; un anticuerpo LAP; un anticuerpo de granzima B; un anticuerpo LFA-1; o un anticuerpo del receptor de transferrina.

87. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ácido nucleico sintético es ARNm sintético.

88. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el portador comprende un lípido o polímero con carga positiva.

89. Un nanoportador sintético de la reivindicación 87 donde el lípido o el polímero con carga positiva comprende poli(β -amino éster), poli(L-lisina), poli(etilenimina) (PEI), dendrímeros de poli(amidoamina) (PAMAM), poli(amina-co-ésteres), metacrilato de poli(dimetilaminoetilo) (PDMAEMA), quitosán, poli-(L-láctido-co-L-lisina), ácido poli[α -(4-aminobutil)-L-glicólico] (PAGA) o poli(4-hidroxi-L-prolina éster) (PHP).

90. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el recubrimiento comprende un lípido o polímero con carga neutra o negativa.

91. Un nanoportador sintético de la reivindicación 89 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende ácido poliglutámico (PGA), ácido poli(acrílico), ácido algínico o hemisuccinato de colesterilo/1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina.

92. Un nanoportador sintético de la reivindicación 89 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende un polímero zwitteriónico.

93. Un nanoportador sintético de la reivindicación 89 donde el recubrimiento con carga neutra o negativa comprende un liposoma.

94. Un nanoportador sintético de la reivindicación 92 donde el liposoma comprende 1,2-dioleoil-3-trimetilamonio-propano (DOTAP), 1,2-di-O-octadecenil-3-trimetilamonio propano (DOTMA), 3 β -[N-(N',N'-dimetilaminoetano)-carbamoil]colesterol (DC-Chol), dioctadecil-amidoglicilespermina (DOGS), colesterol, 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) o 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC).

95. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células

seleccionadas se une selectivamente a CD4 y/o CD8.

96. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8.

5 97. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un fragmento scFv de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8.

98. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el portador comprende poli(β -amino éster).

10 99. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el recubrimiento comprende ácido poliglutámico (PGA).

100. Un nanoportador sintético de la reivindicación 70 donde el ligando dirigido a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de un anticuerpo CD4 y/o un anticuerpo CD8; el portador comprende poli(β -amino éster); y el recubrimiento comprende ácido

15 poliglutámico (PGA).

101. Una composición que comprende un nanoportador sintético de la reivindicación 70.

102. Un método para tratar un sujeto que lo necesita que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un nanoportador de la reivindicación 70 o una composición de la reivindicación 100 mediante la cual se trata al sujeto que lo necesita.

20

25

30