

REIVINDICACIONES

Habiendo descrito la presente invención como antecede, se considera como novedad y, por lo tanto, se reclama como propiedad, lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

1. Una composición que comprende:

a) al menos una célula que comprende:

i) un receptor de células T recombinante (TCR) que comprende una cadena de TCR alfa y una cadena de TCR beta; y

ii) un marcador dependiente de la vía del receptor de células T, en el que el TCR recombinante es específico para un antígeno relevante para la enfermedad unido a una molécula de un complejo mayor de histocompatibilidad (MHC); y

b) una nanomedicina, que comprende un antígeno relevante para la enfermedad unido a una molécula de MHC acoplada a una nanopartícula.

2. La composición de la reivindicación 1, en la que el marcador dependiente de la vía del receptor de células T se transcribe activamente.

3. La composición de la reivindicación 1 o 2, en la que el antígeno relevante para la enfermedad unido a la molécula de MHC está acoplado a la nanopartícula en una proporción de 10:1 o mayor.

4. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, en la que la nanopartícula tiene un diámetro de entre aproximadamente 1 nanómetro y aproximadamente 100 nanómetros.

5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4, en la que la nanopartícula comprende un núcleo metálico.

6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el antígeno relevante para la enfermedad es un antígeno autoinmune o inflamatorio relevante para la enfermedad.

7. La composición de la reivindicación 6, en la que el antígeno autoinmune o inflamatorio relevante para la enfermedad se selecciona de la lista que consiste en, un antígeno de diabetes mellitus tipo I, un antígeno de asma o asma alérgico, un antígeno de esclerosis múltiple, un antígeno de neuropatía periférica, un antígeno primario antígeno de cirrosis biliar, un antígeno de trastorno de espectro óptico de neuromielitis, un antígeno de síndrome de persona rígida, un antígeno de encefalitis autoinmune, un antígeno de pénfigo vulgar, un antígeno de pénfigo foliáceo, un antígeno de psoriasis, un antígeno de enfermedad de Sjögren, un antígeno de enfermedad inflamatoria intestinal,

un antígeno de artritis o artritis reumatoide, un antígeno de lupus eritematoso sistémico, un antígeno de esclerodermia, un antígeno de vasculitis asociado a ANCA, un antígeno de síndrome de Goodpasture, un antígeno de enfermedad de Kawasaki, una enfermedad celíaca, un antígeno de cardiomiopatía autoinmune, un antígeno de miastenia gravis, un antígeno de uveítis autoinmune, un antígeno de la enfermedad de Graves, un antígeno del síndrome antifosfolípido, un antígeno autoinmune antígeno de hepatitis, un antígeno de colangitis esclerosante, un antígeno de colangitis esclerosante primario, antígeno de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o un antígeno relevante para uveítis, y combinaciones de los mismos.

8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que el marcador dependiente de la vía del receptor de células T activa la transcripción de un gen seleccionado del clúster que consiste en, un gen de luciferasa, un gen de beta lactamasa, un gen de cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), un gen secretado de fosfatasa alcalina embrionaria (SEAP), un gen de proteína fluorescente y combinaciones de los mismos.

9. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el marcador dependiente de

la vía del receptor de células T comprende una secuencia de polinucleótidos seleccionada de la lista que consiste en, una secuencia de ADN de unión al factor de transcripción del factor nuclear de células T activadas (NFAT) o promotor, una secuencia de ADN o promotor de unión al factor de transcripción NF- κ B, un factor de transcripción AP1 de unión a la secuencia de ADN o promotor, una secuencia o promotor de ADN de unión al factor de transcripción IL-2 y combinaciones de los mismos.

10. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la al menos una célula se selecciona de JurMA, Jurkat, BW5147, HuT-78, CEM o Molt-4.

11. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el antígeno relevante para la enfermedad es un polipéptido que consiste en, una cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 352 y combinaciones de las mismas.

12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el antígeno relevante para la enfermedad es un polipéptido que consiste en, una cualquiera de las SEQ ID NO: 353 a 455 y combinaciones de las mismas.

13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta se traducen como un polipéptido único.

14. La composición de la reivindicación 13, en la que la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta del polipéptido único están separadas por una secuencia de salto de ribosomas.

15. La composición de la reivindicación 14, en la que la secuencia de salto de ribosomas se establece en una cualquiera de las SEQ ID NO: 456 a 523.

16. La composición de la reivindicación 13, en la que el polipéptido único comprende una secuencia de aminoácidos al menos 80%, 90%, 95% o 100% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 527, 533 o 538.

17. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta se traducen como polipéptidos separados.

18. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en la que la cadena de TCR alfa comprende una secuencia de aminoácidos al menos 80%, 90%, 95% o 100% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 528, 530, 534, 536 539, 541 y la cadena de TCR beta comprende una secuencia

de aminoácidos al menos 80%, 90%, 95% o 100% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 529, 531, 535, 537, 540, o 542.

19. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en la que la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta se expresan en la superficie de la célula.

20. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde la célula comprende al menos un polinucleótido exógeno que codifica la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta.

21. La composición de la reivindicación 20, en la que el al menos un polinucleótido exógeno comprende una secuencia de ácido nucleico IRES.

22. La composición de la reivindicación 21, en la que la secuencia de ácido nucleico de IRES se expone en una cualquiera de las SEQ ID NO: 524 a 526.

23. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 22, en la que el al menos un polinucleótido exógeno comprende una secuencia de ácido nucleico al menos 80%, 90%, 95% o 100% homólogo a la establecida en cualquiera de las SEQ ID NO: 532 o 557.

24. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, para uso in vitro en la

determinación de una potencia o actividad de una nanomedicina.

25. El uso de la reivindicación 24, en el que la nanomedicina es para uso en un individuo humano.

26. Una célula que comprende un receptor de células T recombinante (TCR) y un marcador dependiente de la vía del receptor de células T, en el que el receptor de células T recombinante es específico para un antígeno relevante para la enfermedad unido a una molécula de un complejo mayor de histocompatibilidad.

27. La célula de la reivindicación 26, en la que el marcador dependiente de la vía del receptor de la célula T se transcribe activamente.

28. La célula de las reivindicaciones 26 o 27, en la que el antígeno relevante para la enfermedad es un antígeno relevante para la enfermedad autoinmune o inflamatoria.

29. La célula de la reivindicación 28, en la que el antígeno relevante para la enfermedad autoinmune o inflamatoria se selecciona de la lista que consiste en, un antígeno de diabetes mellitus tipo I, un antígeno de asma o asma alérgico, un antígeno de esclerosis múltiple, un antígeno de neuropatía periférica, un antígeno primario antígeno de cirrosis biliar, un antígeno de trastorno de

espectro óptico de neuromielitis, un antígeno de síndrome de persona rígida, un antígeno de encefalitis autoinmune, un antígeno de pénfigo vulgar, un antígeno de pénfigo foliáceo, un antígeno de psoriasis, un antígeno de enfermedad de Sjögren, un antígeno de enfermedad inflamatoria intestinal, un antígeno de artritis o artritis reumatoide, un antígeno de lupus eritematoso sistémico, un antígeno de esclerodermia, un antígeno de vasculitis asociado a ANCA, un antígeno de síndrome de Goodpasture, un antígeno de enfermedad de Kawasaki, una enfermedad celíaca, un antígeno de cardiomiopatía autoinmune, un antígeno de miastenia gravis, un antígeno de uveítis autoinmune, un antígeno de la enfermedad de Graves, un antígeno del síndrome antifosfolípido, un hepato autoinmune es un antígeno, un antígeno de colangitis esclerosante, un antígeno de colangitis esclerosante primario, un antígeno de enfermedad pulmonar obstructiva crónica o un antígeno relevante de uveítis, y combinaciones de los mismos.

30. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 29, en la que el marcador dependiente de la vía del receptor de la célula T activa la transcripción de un gen seleccionado del clúster que consiste en, un gen de luciferasa, un gen de beta lactamasa, un gen de cloranfenicol

acetiltransferasa (CAT), un gen secretado de fosfatasa alcalina embrionaria (SEAP), un gen de proteína fluorescente y combinaciones de los mismos.

31. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 30, en la que el marcador dependiente de la vía del receptor de la célula T comprende una secuencia de polinucleótidos seleccionada de la lista que consiste en, una secuencia de ADN de unión al factor de transcripción del factor nuclear de células T activadas (NFAT) o promotor, una secuencia de ADN o promotor de unión al factor de transcripción NF- κ B, un factor de transcripción AP1 de unión a la secuencia de ADN o promotor, una secuencia o promotor de ADN de unión al factor de transcripción IL-2 y combinaciones de los mismos.

32. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 31, en la que la célula se selecciona de JurMA, Jurkat, BW5147, HuT-78, CEM o Molt-4.

33. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 32, en la que el antígeno relevante para la enfermedad es un polipéptido que consiste en, una cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 352 y combinaciones de las mismas.

34. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 33, en la que el antígeno relevante para la enfermedad

es un polipéptido que consiste en, una cualquiera de las SEQ ID NO: 353 a 455 y combinaciones de las mismas.

35. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 34, en la que la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta se traducen como un polipéptido único.

36. La célula de la reivindicación 35, en la que la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta del polipéptido único están separadas por una secuencia de salto de ribosomas.

37. La célula de la reivindicación 36, en la que la secuencia de salto de ribosomas se establece en una cualquiera de las SEQ ID NO: 456 a 523.

38. La célula de la reivindicación 35, en la que el polipéptido único comprende una secuencia de aminoácidos al menos 80%, 90%, 95% o 100% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 527, 533 o 538.

39. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 34, en la que la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta se traducen como polipéptidos separados.

40. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 39, en la que la cadena de TCR alfa comprende una secuencia de aminoácidos al menos 80%, 90%, 95% o 100% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 528, 530, 534, 536

539, 541 y la cadena de TCR beta comprende una secuencia de aminoácidos al menos 80%, 90%, 95% o 100% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 529, 531, 535, 537, 540, o 542.

41. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 40, en la que la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta se expresan en la superficie de la célula.

42. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 41, en la que la célula comprende al menos un polinucleótido exógeno que codifica la cadena de TCR alfa y la cadena de TCR beta.

43. La célula de la reivindicación 42, en la que el al menos un polinucleótido exógeno comprende una secuencia de ácido nucleico IRES.

44. La célula de la reivindicación 43, en la que la secuencia de ácido nucleico de IRES se expone en una cualquiera de las SEQ ID NO: 524 a 526.

45. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 42 a 44, en la que el al menos un polinucleótido exógeno comprende una secuencia de ácido nucleico al menos 80%, 90%, 95% o 100% homólogo a la establecida en cualquiera de las SEQ ID NO: 532 o 557.

46. Una población celular de cualquiera de las reivindicaciones 26 a 45.

47. La célula de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 45 o la población celular de la reivindicación 46, para uso in vitro en la determinación de la potencia o actividad de una nanomedicina.

48. El uso de la reivindicación 47, en el que la nanomedicina es para uso en un individuo humano.

49. Un método in vitro para medir la actividad agonista de una nanomedicina que comprende un antígeno relevante para la enfermedad unido a una molécula de MHC acoplada a una nanopartícula, el método comprende:

a) poner en contacto la nanomedicina con la célula de cualquiera de las reivindicaciones 26 a 45 o la población celular de la reivindicación 46; y

b) detectar una señal producida por el marcador dependiente de la vía del receptor de células T.

50. El método de la reivindicación 49, en el que la nanomedicina comprende una pluralidad de nanopartículas.

51. El método de la reivindicación 50, en el que la pluralidad de nanopartículas comprende una pluralidad de nanopartículas que comprenden una pluralidad de antígenos relevantes para la enfermedad unidos a una molécula de MHC acoplada a la nanopartícula.

52. El método de la reivindicación 51, en donde el antígeno relevante para la enfermedad es un antígeno autoinmune o inflamatorio relevante para la enfermedad.

53. El método de la reivindicación 52, en el que el antígeno relevante para la enfermedad autoinmune o inflamatoria se selecciona de la lista que consiste en, un antígeno de diabetes mellitus tipo I, un antígeno de asma o asma alérgico, un antígeno de esclerosis múltiple, un antígeno de neuropatía periférica, un antígeno primario antígeno de cirrosis biliar, un antígeno de trastorno de espectro óptico de neuromielitis, un antígeno de síndrome de persona rígida, un antígeno de encefalitis autoinmune, un antígeno de pénfigo vulgar, un antígeno de pénfigo foliáceo, un antígeno de psoriasis, un antígeno de enfermedad de Sjögren, un antígeno de enfermedad inflamatoria intestinal, un antígeno de artritis o artritis reumatoide, un antígeno de lupus eritematoso sistémico, un antígeno de esclerodermia, un antígeno de vasculitis asociado a ANCA, un antígeno de síndrome de Goodpasture, un antígeno de enfermedad de Kawasaki, una enfermedad celíaca, un antígeno de cardiomiopatía autoinmune, un antígeno de miastenia gravis, un antígeno de uveítis autoinmune, un antígeno de la enfermedad de Graves, un antígeno del síndrome

antifosfolípido, un antígeno de hepatitis autoinmune, un antígeno de colangitis esclerosante, un antígeno de colangitis esclerosante primaria, un antígeno de enfermedad pulmonar obstructiva crónica o un antígeno relevante para uveítis, y combinaciones de los mismos.

54. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 49 a 53, en el que la pluralidad de nanopartículas comprende una pluralidad de nanopartículas con un diámetro de 1 nanómetro a aproximadamente 100 nanómetros.

55. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 49 a 54, que comprende además cuantificar la señal del marcador dependiente de la vía del receptor de células T.

56. El método de la reivindicación 55, en el que la cuantificación comprende determinar una concentración de la nanomedicina que inicia una respuesta que es aproximadamente el 50% de una respuesta máxima, en donde la respuesta máxima es la respuesta iniciada a la concentración más alta de nanomedicina contactada con la célula o población celular cuando una pluralidad de concentraciones de la nanomedicina se pone en contacto con la célula o población celular.

57. El método de la reivindicación 56, en el que el cuándo la pluralidad de las concentraciones de la

nanomedicina se pone en contacto con la célula o población celular en el mismo ensayo.

58. El método de la reivindicación 55, en donde la cuantificación comprende determinar una concentración de la nanomedicina que inicia una respuesta que es al menos aproximadamente 200%, de un control negativo, en donde el control negativo comprende una nanomedicina que no interactúa específicamente con el recombinante Receptor de células T (TCR) de la célula o la población celular.

59. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 49 a 58, en el que la señal es producida por una enzima.

60. El método de la reivindicación 59, en donde la enzima es luciferasa o peroxidasa.

61. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 49 a 58, en el que la señal es una señal fluorescente.

62. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 49 a 61, en el que el método se utiliza como un paso de control de calidad en un proceso de fabricación.