

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

1. Una célula T modificada por ingeniería genética que comprende un gen *CD70* alterado y un ácido nucleico que codifica para un receptor de antígeno quimérico (CAR) que no se une a CD70.
2. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 1, que comprende además un gen de región constante alfa de receptor de células T (TRAC) alterado.
3. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 1 o 2, que comprende además un gen de beta-2-microglobulina ($\beta 2M$) alterado.
4. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 2-3, en la que el gen *TRAC* alterado comprende el ácido nucleico que codifica para el CAR.
5. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el CAR comprende un ectodominio que se une al antígeno de maduración anti-células B (BCMA).
6. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 5, en la que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-BCMA.
7. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 5, en la que el ectodominio comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) anti-BCMA.
8. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 7, en la que el scFv anti-BCMA comprende regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada variable (VH) y las mismas CDR de cadena ligera

variable (VL) que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 60 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 61.

9. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 7, en la que el scFv anti-BCMA comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 60 y 61, respectivamente.

10. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 7, en la que el scFv anti-BCMA comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59.

11. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el CAR comprende un ectodominio que se une a CD33.

12. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 11, en la que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-CD33.

13. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 11, en la que el ectodominio comprende un scFv anti-CD33.

14. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 13, en la que el scFv anti-CD33 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de cadena VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 140 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 141.

15. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 11, en la que el scFv anti-CD33 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 140 y 141, respectivamente.

16. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 11, en la que el scFv anti-CD33 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137.

17. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el CAR comprende un ectodominio que se une a CD19.

18. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 17, en la que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-CD19.

19. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 17, en la que el ectodominio comprende un scFv anti-CD19.

20. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 19, en la que el scFv anti-CD19 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de cadena VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 152 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 153.

21. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 19, en la que el scFv anti-CD19 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 152 y 153, respectivamente.

22. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 19, en la que el scFv anti-CD19 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151.

23. Una célula T modificada por ingeniería genética que comprende:

(i) un gen *TRAC* alterado;

(ii) un gen $\beta 2M$ alterado;

(iii) un gen *CD70* alterado; y

(iv) un ácido nucleico que codifica para un CAR que se une a CD70.

24. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 23, en la que el gen *TRAC* alterado comprende el ácido nucleico que codifica para el CAR.

25. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 23-24, en la que el CAR comprende un ectodominio que comprende un anticuerpo anti-CD70.

26. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 23-24, en la que el CAR comprende un ectodominio que comprende un scFv anti-CD70.

27. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 26, en la que el scFv anti-CD70 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 51 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 52.

28. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 26, en la que el scFv anti-CD70 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 51 y 52, respectivamente.

29. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 26, en la que el scFv anti-CD70 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48 o 50.

30. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 26, en la que el scFv anti-CD70 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.

31. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en la que el CAR comprende un dominio coestimulador CD28 o 41BB.

32. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 1-31, en la que el CAR comprende un dominio de señalización CD3ζ.

33. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 1-32, en la que el CAR comprende un dominio transmembrana CD8.

34. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 2-33, en la que hay una delección en el gen *TRAC* en relación con células T no modificadas.

35. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 34, en la que la delección es de 15-30 pares de bases.

36. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 34, en la que la delección es de 20 pares de bases.

37. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 34, en la que la delección comprende SEQ ID NO: 86.

38. Una célula T modificada por ingeniería genética que comprende:

- (i) un gen *TRAC* alterado, en el que el gen *TRAC* alterado comprende un ácido nucleico que codifica para un CAR que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 46;

- (ii) un gen *β2M* alterado; y

- (iii) un gen *CD70* alterado.

39. Una célula T modificada por ingeniería genética que comprende:

- (i) un gen *TRAC* alterado, en el que el gen *TRAC* alterado comprende un ácido nucleico que codifica para un CAR, en el que la secuencia de ácido nucleico es al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO: 45;

- (ii) un gen *β2M* alterado; y

- (iii) un gen *CD70* alterado.

40. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 39, en la que el gen *TRAC* alterado comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en SEQ ID NO: 45.

41. Una célula T modificada por ingeniería genética que comprende:

(i) un gen *TRAC* alterado que comprende una secuencia de ácido nucleico al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO: 44;

(ii) un gen *β2M* alterado; y

(iii) un gen *CD70* alterado.

42. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 41, en la que el gen *TRAC* alterado comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en SEQ ID NO: 44.

43. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 1-42, en la que la célula T modificada por ingeniería genética comprende un gen de muerte celular programada-1 (PD-1).

44. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en la que la célula T modificada por ingeniería genética mantiene la citotoxicidad después de 5 reexposiciones con una célula diana, en la que la célula diana expresa un antígeno específico para el CAR.

45. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 44, en la que la célula T modificada por ingeniería genética mantiene la citotoxicidad después de 10 reexposiciones con la célula diana.

46. La célula T modificada por ingeniería genética de una cualquiera de las reivindicaciones 40-41, en la que la célula diana es una célula cancerosa.

47. Una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en la que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden un gen *CD70* alterado y un ácido nucleico que codifica para un CAR que no se une a CD70.

48. La población de células de la reivindicación 47, que comprende además un gen *TRAC* alterado.
49. La población de células de la reivindicación 47 o 48, que comprende además un gen $\beta 2M$ alterado.
50. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-49, en la que el gen *TRAC* alterado comprende el ácido nucleico que codifica para el CAR.
51. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-50, en la que el CAR comprende un ectodominio que se une a antígeno de maduración anti-células B (BCMA).
52. La población de células de la reivindicación 51, en la que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-BCMA.
53. La población de células de la reivindicación 51, en la que el ectodominio comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) anti-BCMA.
54. La población de células de la reivindicación 53, en la que el scFv anti-BCMA comprende regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada variable (VH) y las mismas CDR de cadena ligera variable (VL) que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 60 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 61.
55. La población de células de la reivindicación 53, en la que el scFv anti-BCMA comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 60 y 61, respectivamente.
56. La población de células de la reivindicación 53, en la que el scFv anti-BCMA comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59.

57. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-50, en la que el CAR comprende un ectodominio que se une a CD33.

58. La población de células de la reivindicación 57, en la que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-CD33.

59. La población de células de la reivindicación 57, en la que el ectodominio comprende un scFv anti-CD33.

60. La población de células de la reivindicación 59, en la que el scFv anti-CD33 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de cadena VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 140 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 141.

61. La población de células de la reivindicación 59, en la que el scFv anti-CD33 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 140 y 141, respectivamente.

62. La población de células de la reivindicación 59, en la que el scFv anti-CD33 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137.

63. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-50, en la que el CAR comprende un ectodominio que se une a CD19.

64. La población de células de la reivindicación 63, en la que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-CD19.

65. La población de células de la reivindicación 63, en la que el ectodominio comprende un scFv anti-CD19.

66. La población de células de la reivindicación 65, en la que el scFv anti-CD19 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de cadena VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 152 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 153.

67. La población de células de la reivindicación 65, en la que el scFv anti-CD19 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 152 y 153, respectivamente.

68. La población de células de la reivindicación 65, en la que el scFv anti-CD19 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151.

69. Una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en la que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden:

(i) un gen *TRAC* alterado;

(ii) un gen *$\beta 2M$* alterado;

(iii) un gen *CD70* alterado; y

(iv) un ácido nucleico que codifica para un CAR que se une a CD70.

70. La población de células de la reivindicación 69, en la que el CAR comprende un ectodominio que comprende un anticuerpo anti-CD70.

71. La población de células de la reivindicación 69, en la que el CAR comprende un ectodominio que comprende un scFv anti-CD70.

72. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-71, en la que el CAR comprende un dominio coestimulador CD28 o 41BB.

73. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-72, en la que el CAR comprende un dominio de señalización CD3 ζ .

74. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-73, en la que el CAR comprende un dominio transmembrana CD8.

75. Una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en la que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden:

- (i) un gen *TRAC* alterado;
- (ii) un gen $\beta 2M$ alterado;
- (iii) un gen *CD70* alterado

(iv) un ácido nucleico que codifica para un CAR que comprende (a) un ectodominio que comprende un scFv anti-CD70, (b) un dominio transmembrana CD8 y (c) un endodominio que comprende un dominio coestimulador 41BB y un dominio de señalización CD3z.

76. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 69-75, en la que el gen *TRAC* alterado comprende el ácido nucleico que codifica para el CAR.

77. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 71-76, en la que el scFv anti-CD70 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 51 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 52.

78. La población de células de la reivindicación 77, en la que el scFv anti-CD70 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 51 y 52, respectivamente.

79. La población de células de la reivindicación 77, en la que el scFv anti-CD70 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48 o 50.

80. La población de células de la reivindicación 77, en la que el scFv anti-CD70 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.

81. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 48-80, en la que hay una delección en el gen *TRAC* en relación con células T no modificadas.

82. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 81, en la que la delección es de 15-30 pares de bases.

83. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 81, en la que la delección es de 20 pares de bases.

84. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 81, en la que la delección comprende SEQ ID NO: 86.

85. Una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en la que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden:

- (i) un gen *TRAC* alterado, en el que el gen *TRAC* alterado comprende un ácido nucleico que codifica para un CAR que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 46;

- (ii) un gen *$\beta 2M$* alterado; y

- (iii) un gen *CD70* alterado.

86. Una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en la que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden:

- (i) un gen *TRAC* alterado, en el que el gen *TRAC* alterado comprende un ácido nucleico que codifica para un CAR, en el que la secuencia de ácido nucleico es al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO: 45;

- (ii) un gen *$\beta 2M$* alterado; y

- (iii) un gen *CD70* alterado.

87. La población de células de la reivindicación 86, en la que el gen *TRAC* alterado comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en SEQ ID NO: 45.

88. Una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en la que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden:

(i) un gen *TRAC* alterado que comprende una secuencia de ácido nucleico al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO: 44;

(ii) un gen *β2M* alterado; y

(iii) un gen *CD70* alterado.

89. La población de células de la reivindicación 88, en la que el gen *TRAC* alterado comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en SEQ ID NO: 44.

90. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-89, en la que la célula T modificada por ingeniería genética mantiene la citotoxicidad después de 5 reexposiciones con una célula diana, en la que la célula diana expresa un antígeno específico para el CAR.

91. La población de células de la reivindicación 90, en la que la célula T modificada por ingeniería genética mantiene la citotoxicidad después de 10 reexposiciones con la célula diana.

92. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 90-91, en la que la célula diana es una célula cancerosa.

93. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 49-92, en la que el gen *β2M* alterado comprende al menos una secuencia de nucleótidos seleccionada de una cualquiera de SEQ ID NO: 9-14.

94. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-93, en la que el gen *CD70* alterado

comprende al menos una secuencia de nucleótidos seleccionada de una cualquiera de SEQ ID NO: 129-134.

95. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 48-94, en la que al menos el 90% de las células T modificadas por ingeniería genética no expresan un nivel detectable de proteína de superficie TCR.

96. La población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-95, en la que las células T modificadas por ingeniería genética:

- (a) presentan una capacidad proliferativa celular aumentada;

- (b) presentan una lisis celular aumentada;

- (c) presentan un agotamiento celular reducido;

- (d) mantienen la proliferación dependiente de citocinas;

- (e) mantienen una secreción de citocinas aumentada; o

- (f) cualquier combinación de (a) - (e),

en relación con células T de control, en las que las células T de control expresan proteína CD70 endógena.

97. Un método que comprende administrar a un sujeto la población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-96.

98. El método de la reivindicación 97, en el que las células T modificadas por ingeniería genética son células T humanas modificadas por ingeniería genética.

99. El método de la reivindicación 97 o 98, en el que el sujeto tiene un cáncer.

100. El método de la reivindicación 99, en el que el cáncer expresa CD70, BMCA, CD19, CD33 o combinaciones de los mismos.

101. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 99-100, en el que la población de células se administra al sujeto en una cantidad eficaz para tratar el cáncer.

102. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 99-101, en el que el cáncer es un tumor maligno sólido o un tumor maligno hematológico.

103. El método de la reivindicación 102, en el que el tumor maligno sólido se selecciona del grupo que consiste en: tumor de ovario, tumor pancreático, tumor de riñón, tumor de pulmón y tumor intestinal.

104. El método de la reivindicación 99, en el que la población de células se administra al sujeto en una cantidad eficaz para reducir el volumen de un tumor en el sujeto.

105. Un método de tratamiento de cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto la población de células de una cualquiera de las reivindicaciones 47-96.

106. Un método de tratamiento de cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en el que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden:

- (i) un gen *TRAC* alterado, en el que el gen *TRAC* alterado comprende un ácido nucleico que codifica para un CAR que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 46;

- (ii) un gen *$\beta 2M$* alterado; y

- (iii) un gen *CD70* alterado,

tratando de ese modo el cáncer en el sujeto.

107. Un método de tratamiento de cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en el que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden:

- (i) un gen *TRAC* alterado, en el que el gen *TRAC* alterado comprende un ácido nucleico que codifica para un CAR, en el

que la secuencia de ácido nucleico es al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO: 45;

(ii) un gen $\beta 2M$ alterado; y

(iii) un gen *CD70* alterado,

tratando de ese modo el cáncer en el sujeto.

108. El método de la reivindicación 107, en el que el gen *TRAC* alterado comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en SEQ ID NO: 45.

109. Un método de tratamiento de cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una población de células que comprenden células T modificadas por ingeniería genética, en el que las células T modificadas por ingeniería genética comprenden:

(i) un gen *TRAC* alterado que comprende una secuencia de ácido nucleico al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO: 44;

(ii) un gen $\beta 2M$ alterado; y

(iii) un gen *CD70* alterado,

tratando de ese modo el cáncer en el sujeto.

110. El método de la reivindicación 109, en el que el gen *TRAC* alterado comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en SEQ ID NO: 44.

111. Un método para producir una célula T modificada por ingeniería genética, comprendiendo el método:

(a) suministrar a una célula T

una nucleasa guiada por ARN,

un ARNg que selecciona como diana un gen *CD70*, y

un vector que comprende un molde donador que comprende un ácido nucleico que codifica para un CAR; y

(b) producir una célula T modificada por ingeniería genética que comprende un gen *CD70* alterado y que expresa el CAR.

112. El método de la reivindicación 111, que comprende además suministrar a la célula T un ARNg que selecciona como diana un gen *TRAC*; en el que la célula T modificada por ingeniería genética comprende además un gen *TRAC* alterado.

113. El método de la reivindicación 112, en el que el ácido nucleico que codifica para el CAR está flanqueado por brazos de homología izquierdo y derecho al gen *TRAC*; y en el que la célula T modificada por ingeniería genética comprende el ácido nucleico que codifica para el CAR en el gen *TRAC*.

114. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-113, que comprende además suministrar a la célula T un ARNg que selecciona como diana un gen $\beta 2M$; en el que la célula T modificada por ingeniería genética comprende además un gen $\beta 2M$ alterado.

115. Un método para producir una célula T modificada por ingeniería genética, comprendiendo el método

- (a) suministrar a una célula T
 - una nucleasa guiada por ARN,
 - un ARNg que selecciona como diana un gen *TRAC*,
 - un ARNg que selecciona como diana un gen $\beta 2M$,
 - un ARNg que selecciona como diana un gen *CD70*, y
 - un vector que comprende un molde donador que comprende un ácido nucleico que codifica para un CAR; y

- (b) producir una célula T modificada por ingeniería genética.

116. El método de la reivindicación 115, en el que el ácido nucleico que codifica para el CAR está flanqueado por brazos de homología izquierdo y derecho al locus del gen *TRAC*.

117. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-116, en el que la nucleasa guiada por ARN es una nucleasa Cas9, opcionalmente una nucleasa Cas9 de *S. pyogenes*.

118. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 112-117, en el que el ARNg que selecciona como diana el gen *TRAC* comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 98 o selecciona como diana la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 118, y opcionalmente en las que el ARNg que selecciona como diana el gen *TRAC* comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 30.

119. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 114-118, en el que el ARNg que selecciona como diana el gen $\beta 2M$ comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 99 o selecciona como diana la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 119, y opcionalmente en las que el ARNg que selecciona como diana el gen $\beta 2M$ comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 31.

120. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-119, en el que el ARNg que selecciona como diana el gen *CD70* comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 94 o 95 o selecciona como diana la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 114 o 115, y opcionalmente en el que el ARNg que selecciona como diana el gen *CD70* comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 26 o 27.

121. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-120, en el que la nucleasa guiada por ARN y el ARNg se complejas en una partícula de ribonucleoproteína (RNP).

122. Un método para producir una célula T modificada por ingeniería genética para inmunoterapia contra una célula diana, que comprende:

(a) alterar un gen *CD70* en una célula T, y

(b) expresar un CAR que se une a un antígeno expresado sobre la célula diana, en el que el antígeno no es *CD70*.

123. El método de la reivindicación 122, en el que la célula diana es una célula cancerosa.

124. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 122-123, en el que el método es *ex vivo*.
125. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 122-124, que comprende además alterar un gen *TRAC* en la célula T.
126. El método de la reivindicación 125, en el que el CAR está codificado por un ácido nucleico en el gen *TRAC* alterado.
127. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 122-126, que comprende además alterar un gen $\beta 2M$ en la célula T.
128. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-127, en el que el CAR comprende un ectodominio que se une a antígeno de maduración anti-células B (BCMA).
129. El método de la reivindicación 128, en el que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-BCMA.
130. El método de la reivindicación 128, en el que el ectodominio comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) anti-BCMA.
131. El método de la reivindicación 130, en el que el scFv anti-BCMA comprende regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada variable (VH) y las mismas CDR de cadena ligera variable (VL) que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 60 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 61.
132. El método de la reivindicación 130, en el que el scFv anti-BCMA comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 60 y 61, respectivamente.
133. El método de la reivindicación 130, en el que el scFv anti-BCMA comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59.

134. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-127, en el que el CAR comprende un ectodominio que se une a CD33.

135. El método de la reivindicación 134, en el que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-CD33.

136. El método de la reivindicación 134, en el que el ectodominio comprende un scFv anti-CD33.

137. El método de la reivindicación 136, en el que el scFv anti-CD33 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de cadena VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 140 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 141.

138. El método de la reivindicación 136, en el que el scFv anti-CD33 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 140 y 141, respectivamente.

139. El método de la reivindicación 136, en el que el scFv anti-CD33 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137.

140. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-127, en el que el CAR comprende un ectodominio que se une a CD19.

141. El método de la reivindicación 140, en el que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-CD19.

142. El método de la reivindicación 140, en el que el ectodominio comprende un scFv anti-CD19.

143. El método de la reivindicación 142, en el que el scFv anti-CD19 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de cadena VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 152 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 153.

144. El método de la reivindicación 142, en el que el scFv anti-CD19 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 152 y 153, respectivamente.

145. El método de la reivindicación 142, en el que el scFv anti-CD19 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150.

146. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-127, en el que el CAR comprende un ectodominio que se une a CD70.

147. El método de la reivindicación 146, en el que el ectodominio comprende un anticuerpo anti-CD70.

148. El método de la reivindicación 146, en el que el ectodominio comprende un scFv anti-CD70.

149. El método de la reivindicación 148, en el que el scFv anti-CD70 comprende las mismas CDR de VH y las mismas CDR de VL que un anticuerpo de referencia, en la que el anticuerpo de referencia comprende una VH expuesta como SEQ ID NO: 51 y una VL expuesta como SEQ ID NO: 52.

150. El método de la reivindicación 148, en el que el scFv anti-CD70 comprende cadenas VH y VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 51 y 52, respectivamente.

151. El método de la reivindicación 148, en el que el scFv anti-CD70 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48 o 50.

52. El método de la reivindicación 148, en el que el scFv anti-CD70 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.

153. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-152, en el que el CAR comprende un dominio coestimulador CD28 o 41BB.

154. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-153, en el que el CAR comprende un dominio de señalización CD3 ζ .
155. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-154, en el que el CAR comprende un dominio transmembrana CD8.
156. Una población de células T modificadas por ingeniería genética producidas mediante el método de una cualquiera de las reivindicaciones 111-155.
157. Un método de aumento de la proliferación de células T, que comprende alterar el gen *CD70* en las células T.
158. Un método de reducción del agotamiento de células T, que comprende alterar el gen *CD70* en las células T.
159. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 157-158, en el que el gen *CD70* se altera mediante edición génica por CRISPR/Cas.
160. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 157-159, que comprende además alterar el gen *TRAC*, el gen $\beta 2M$ o tanto el gen *TRAC* como $\beta 2M$ en las células T.
161. El método de la reivindicación 160, en el que el gen *TRAC*, el gen $\beta 2M$ o tanto el gen *TRAC* como el $\beta 2M$ se altera mediante edición génica por CRISPR/Cas.
162. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 5, en la que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57.
163. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 162, en la que el CAR está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 56.
164. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 11, en la que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

165. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 164, en la que el CAR está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 136.

166. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 17, en la que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149.

167. La célula T modificada por ingeniería genética de la reivindicación 166, en la que el CAR está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 148.

168. La población de células de la reivindicación 51, en la que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57.

169. La población de células de la reivindicación 168, en la que el R está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 56.

170. La población de células de la reivindicación 57, en la que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

171. La población de células de la reivindicación 170, en la que el R está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 136.

172. La población de células de la reivindicación 63, en la que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149.

173. La población de células de la reivindicación 172, en la que el R está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 148.

174. El método de la reivindicación 128, en el que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57.

175. El método de la reivindicación 174, en el que el CAR está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 56.

176. El método de la reivindicación 134, en el que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

177. El método de la reivindicación 176, en el que el CAR está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 136.

178. El método de la reivindicación 140, en el que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149.

179. El método de la reivindicación 178, en el que el CAR está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 148.

180. El método de la reivindicación 146, en el que el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46.

181. El método de la reivindicación 180, en el que el CAR está codificado por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 45.