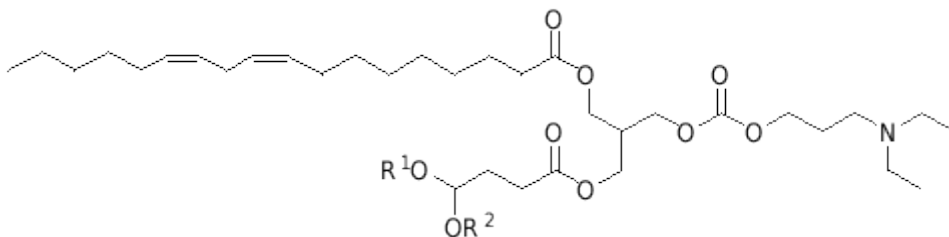


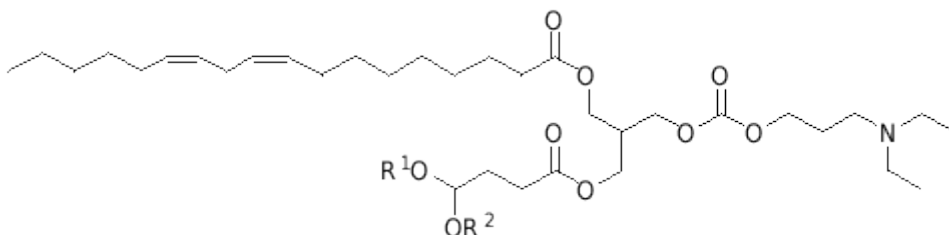
REIVINDICACIONES

1. Una composición de nanopartículas lipídicas (“LNP”) que comprende:
un componente de ARN; y
un componente lipídico, donde el componente lipídico comprende:
alrededor de 50-60 % molar de lípido de amina;
alrededor de 8-10 % molar de lípido neutro; y
alrededor de 2,5-4 % molar de lípido de PEG,
donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar
el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12 y
donde la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 6.

2. Una composición de LNP que comprende:
un componente de ARN;
alrededor de 50-60 % molar de lípido de amina;
alrededor de 27-39,5 % molar de lípido auxiliar;
alrededor de 8-10 % molar de lípido neutro; y
alrededor de 2,5-4 % molar de lípido de PEG,
en donde el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12 y
donde la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 5-7.

3. La composición de LNP de la reivindicación 2, donde la relación entre N/P es de alrededor de 6.

4. Una composición de LNP que comprende:

un componente de ARN; y

un componente lipídico, donde el componente lipídico comprende

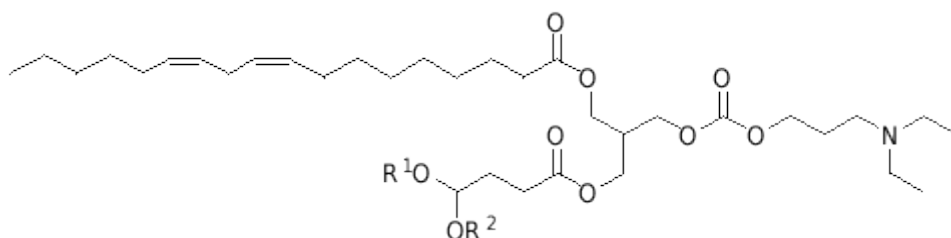
alrededor de 50-60 % molar de lípido de amina;

alrededor de 5-15 % molar de lípido neutro; y

alrededor de 2,5-4 % molar de lípido de PEG,

donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar

en donde el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12 y

donde la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 3-10.

5. Una composición de LNP que comprende:

un componente de ARN; y

un componente lipídico, donde el componente lipídico comprende

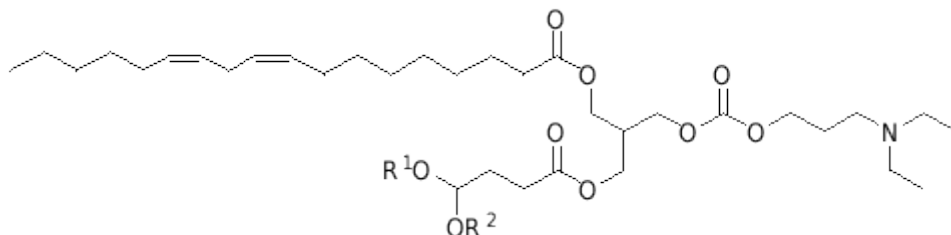
alrededor de 40-60 % molar de lípido de amina;

alrededor de 5-15 % molar de lípido neutro; y

alrededor de 2,5-4 % molar de lípido de PEG,

donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar

en donde el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12 y

donde la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 6.

6. Una composición de LNP que comprende:

un componente de ARN; y

un componente lipídico, donde el componente lipídico comprende

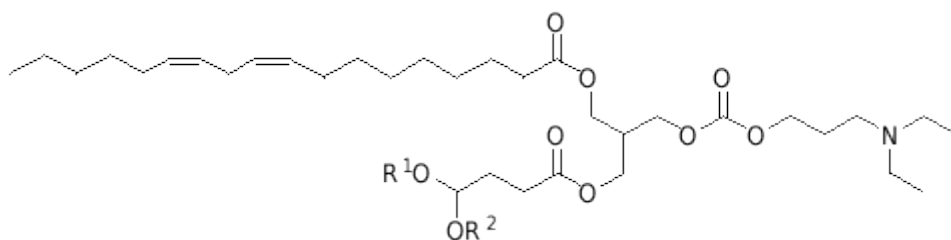
alrededor de 50-60 % molar de lípido de amina;

alrededor de 5-15 % molar de lípido neutro; y

alrededor de 1,5-10 % molar de lípido de PEG,

donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar

en donde el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12 y

donde la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 6.

7. Una composición de LNP que comprende:

un componente de ARN; y

un componente lipídico, donde el componente lipídico comprende

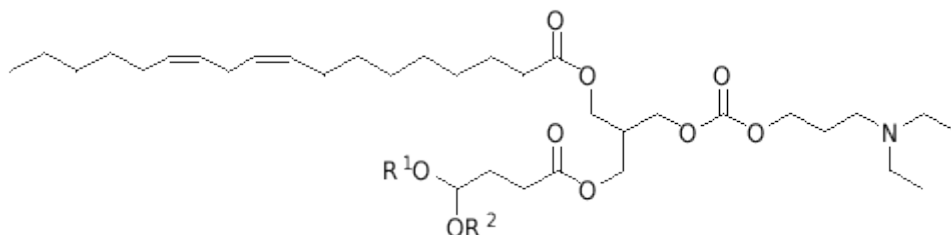
alrededor de 40-60 % molar de lípido de amina;

alrededor de 0-10 % molar de lípido neutro; y

alrededor de 1,5-10 % molar de lípido de PEG,

donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar

en donde el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12 y

donde la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 3-10.

8. Una composición de LNP que comprende:

un componente de ARN; y

un componente lipídico, donde el componente lipídico comprende:

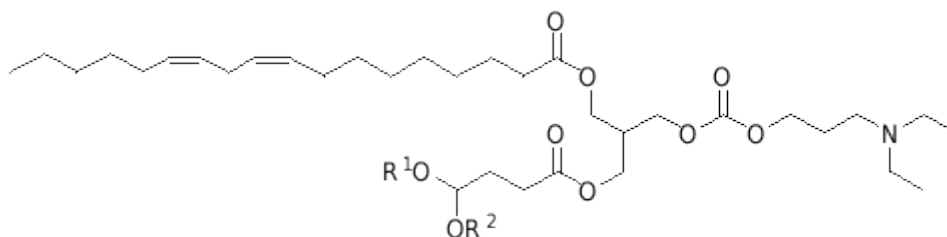
alrededor de 40-60 % molar de lípido de amina;

menos de 1 % molar de lípido neutro; y

alrededor de 1,5-10 % molar de lípido de PEG,

donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar

en donde el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12 y

donde la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 3-10.

9. Una composición de LNP que comprende:

un componente de ARN; y

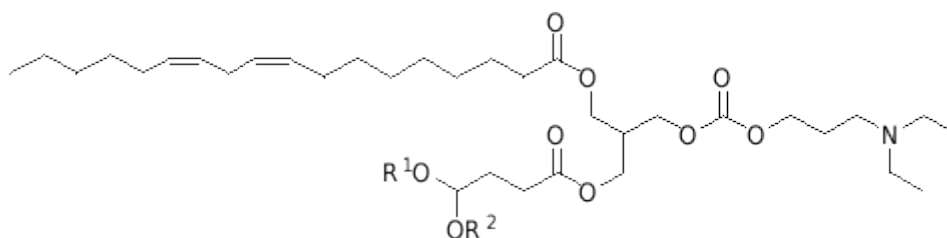
un componente lipídico, donde el componente lipídico comprende:

alrededor de 40-60 % molar de lípido de amina; y

alrededor de 1,5-10 % molar de lípido de PEG,

donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar,

en donde el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12

la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 3-10 y

la composición de LNP está esencialmente libre o libre de fosfolípido neutro.

10. Una composición de LNP que comprende:

un componente de ARN; y

un componente lipídico, donde el componente lipídico comprende:

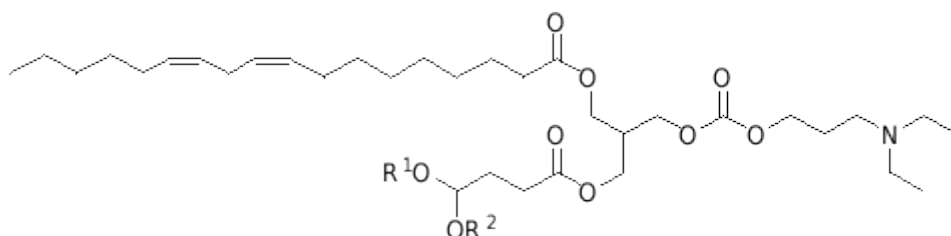
alrededor de 50-60 % molar de lípido de amina;

alrededor de 8-10 % molar de lípido neutro; y

alrededor de 2,5-4 % molar de lípido de PEG,

donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar

en donde el lípido de amina está representado por la siguiente fórmula estructural



donde R1 y R2 son cada uno independientemente un alquilo C4-C12 y

donde la relación entre N/P de la composición de LNP es de alrededor de 3-7.

11. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN comprende un ARNm.

12. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN codifica un agente de unión a ADN guiada por ARN.

13. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN comprende un ARNm de nucleasa Cas clase 2.

14. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN comprende un ARNm de nucleasa Cas9.

15. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 11-14, donde el ARNm es un ARN modificado.

16. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN comprende un ARN que comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiada por ARN, donde el marco de lectura abierto tiene un contenido de uridina que oscila de su contenido mínimo de uridina hasta 150 % del contenido mínimo de uridina.

17. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN comprende un ARNm que comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiada por ARN, donde el marco de lectura abierto tiene un contenido de

dinucleótido de uridina que oscila de su contenido mínimo de dinucleótido de uridina hasta 150 % del contenido mínimo de dinucleótido de uridina.

18. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN comprende un ARNm que comprende una secuencia con al menos 90 % de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65 o 66, donde el ARNm comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiada por ARN.

19. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN comprende un ácido nucleico de ARNg.

20. La composición de la reivindicación 19, donde el ácido nucleico de ARNg es un ARNG.

21. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el componente de ARN comprende un ARNm de nucleasa Cas clase 2 y un ARNg.

22. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-21, donde el ácido nucleico de ARNg es o codifica un ARN guía dual (ARNgd).

23. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-21, donde el ácido nucleico de ARNg es o codifica un ARN guía sencillo ARNGs.

24. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-23, donde el ARNg está modificado.

25. La composición de la reivindicación 24, donde el ARNm comprende una modificación seleccionada de un nucleótido modificado de 2'-O-metil (2'-O-Me), un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos; y un nucleótido modificado de 2'-fluoro (2'-F).

26. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 24-25, donde el ARNm comprende una modificación en uno o más de los cinco primeros nucleótidos del extremo 5'.

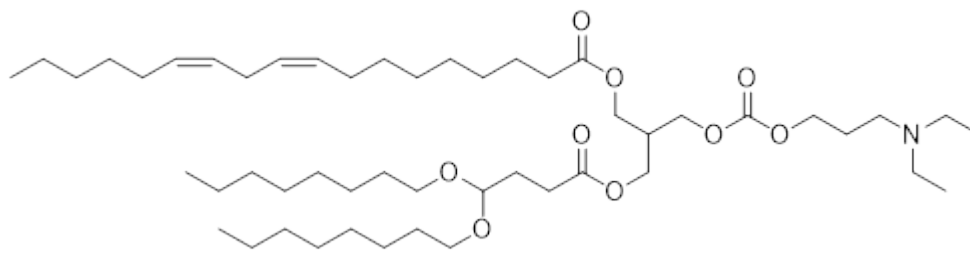
27. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 24-26, donde el ARNm comprende una modificación en uno o más de los cinco últimos nucleótidos del extremo 3'.

28. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 24-27, donde el ARNm comprende enlaces PS entre los primeros cuatro nucleótidos.

29. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 24-28, donde el ARNm comprende enlaces PS entre los últimos cuatro nucleótidos.

30. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 24-29, que comprende, además, nucleótidos modificados en 2'-O-Me en los tres primeros nucleótidos en el extremo 5'.
31. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 24-30, que comprende, además, nucleótidos modificados en 2'-O-Me en los tres últimos nucleótidos en el extremo 3'.
32. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-31, donde el ARNg y ARNm de nucleasa Cas clase 2 están presente en una relación que oscila de alrededor de 10:1 a alrededor de 1:10 en peso.
33. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-32, donde el ARNg y ARNm de nucleasa Cas clase 2 están presente en una relación que oscila de alrededor de 5:1 a alrededor de 1:5 en peso.
34. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-33, donde el ARNg y ARNm de nucleasa Cas clase 2 están presente en una relación que oscila de alrededor de 3:1 a alrededor de 1:1 en peso.
35. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-34, donde el ARNg y ARNm de nucleasa Cas clase 2 están presente en una relación que oscila de alrededor de 2:1 a alrededor de 1:1 en peso.
36. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-35, donde el ARNg y ARNm de nucleasa Cas clase 2 están presente en una relación de alrededor de 2:1 en peso.
37. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-35, donde el ARNg y ARNm de nucleasa Cas clase 2 están presente en una relación de alrededor de 1:1 en peso.
38. La composición de cualquier reivindicación anterior, que comprende, además, al menos una plantilla.
39. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el % molar del lípido de PEG es de alrededor de 3.
40. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el % molar del lípido de amina es de alrededor de 50.
41. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el % molar del lípido de amina es de alrededor de 55.

42. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el % molar del lípido de amina es ± 3 % molar de un % en moles objetivo de lípido de amina.
43. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el % molar del lípido de amina es ± 2 % molar de un % en moles objetivo de lípido de amina.
44. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el % molar del lípido de amina es 47-53 % molar.
45. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el % molar del lípido de amina es 48-53 % molar.
46. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el % molar del lípido de amina es 53-57 % molar.
47. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde la relación entre N/P es 6 ± 1 .
48. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde la relación entre N/P es $6 \pm 0,5$.
49. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el lípido de amina es lípido A, donde el lípido A está representado por la siguiente fórmula estructural:.



50. La composición de cualquier reivindicación precedente, en donde R1 y R2 son independientemente un alquil C5-C12
51. La composición de cualquier reivindicación precedente, en donde R1 y R2 son independientemente un alquil C5-C10.
52. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-49, en la que R1 y R2 se seleccionan cada uno independientemente de un análogo C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11 y C12.
53. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el lípido auxiliar es colesterol.

54. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el lípido neutro es DSPC.
55. La composición de las reivindicaciones 1-53, donde el lípido neutro es DPPC.
56. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el lípido de PEG comprende dimiristoilglicerol (DMG).
57. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el lípido de PEG comprende PEG-2k.
58. La composición de cualquier reivindicación anterior, donde el lípido de PEG es PEG-DMG.
59. La composición de la reivindicación 58, donde el PEG-DMG es un PEG2k-DMG.
60. La composición de la reivindicación 9, donde la composición de LNP está esencialmente libre de fosfolípido neutro.
61. Un método in vitro de edición génica, que comprende poner en contacto una célula con una composición de LNP de cualquiera de las reivindicaciones 12-60.
62. Un método in vitro de edición genética, que comprende suministrar un ARNm de nucleasa Cas de Clase 2 y un ácido nucleico de ARN guía en una célula, donde el ARNm de nucleasa Cas de Clase 2 y el ácido nucleico de ARN guía se formulan en al menos una composición de LNP de cualquiera de las reivindicaciones 13-60.
63. Un método in vitro para producir una célula modificada genéticamente, que comprende poner en contacto una célula con al menos una composición de LNP de cualquiera de las reivindicaciones 12-60.
64. El método de cualquiera de las reivindicaciones 61-63, en donde la célula se pone en contacto con la composición de LNP al menos dos veces.
65. El método de la reivindicación 64, en donde la célula se pone en contacto con la composición de LNP 2-5 veces.
66. El método de cualquiera de las reivindicaciones 61-65, que comprende, además, introducir al menos un ácido nucleico plantilla en una célula.
67. El método de cualquiera de las reivindicaciones 61-66, que comprende además contactar la célula con una segunda composición LNP en de el ARNm se formula en una primera composición de LNP y el ácido nucleico de ARN guía se formula en la segunda composición de LNP.

68. El método de la reivindicación 67, en donde la célula se pone en contacto con la primera y segunda composiciones de LNP de forma simultánea.
69. El método de la reivindicación 72, donde la célula se pone en contacto con la primera y segunda composiciones de LNP de forma secuencial.
70. El método de cualquiera de las reivindicaciones 61-68, donde el componente de ARN comprende además un ácido nucleico de ARN guía; y el ARNm y el ácido nucleico de ARN guía se formulan en una única composición de LNP.
71. Un kit que comprende una primera composición de LNP de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 y una segunda composición de LNP de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el componente de ARN en la primera composición de LNP es ARNm; y el componente de ARN en la segunda composición de LNP es un ácido nucleico de ARN guía