

REIVINDICACIONES

1. Un método para modificar selectivamente una población de células de origen hematopoyético seleccionada que comprende las etapas de:

administrar un nanoportador sintético dirigido a células a una mezcla heterogénea de células *ex vivo* que comprende la población de células de origen hematopoyético seleccionada, y modificar así selectivamente la población de células de origen hematopoyético seleccionada,

en el que el nanoportador sintético se forma mediante las etapas de:

- (i) agregar ácido poliglutámico (PGA), que comprende aproximadamente 12 a 18 kDa de PGA acoplado a un ligando de direccionamiento a células seleccionadas que se une selectivamente a la población de células de origen hematopoyético seleccionadas, a una solución que comprende ácido nucleico encapsulado dentro de un portador polimérico cargado positivamente, y
- (ii) incubar la solución, en la que los nanoportadores sintéticos dirigidos a células se forman dentro de los 5 minutos posteriores al paso (i) de agregar y comprende

- (A) ácido nucleico encapsulado dentro del portador polimérico cargado positivamente;
- (B) un recubrimiento cargado de manera neutra o negativa que comprende el PGA sobre la superficie externa del portador polimérico cargado positivamente; y
- (C) el ligando de direccionamiento a las células seleccionadas que se extiende desde la superficie externa del recubrimiento cargado de manera neutra o negativa y acoplado al PGA dentro del recubrimiento cargado de manera neutra o negativa; .

(a)

2. El método de la reivindicación 1, en donde el polímero cargado positivamente comprende poli(β -amino éster).

- 3.** El método de la reivindicación 1, en donde el PGA comprende alrededor de 15 kDa de PGA.
- 4.** El método de la reivindicación 1, en donde la mezcla heterogénea de células *ex vivo* está en un medio libre de suero.
- 5.** El método de la reivindicación 1, en donde el ácido nucleico codifica una megaTAL de SEQ ID NO: 1 o un receptor de antígeno quimérico humanizado codificado por la SEQ ID NO: 37.
- 6.** El método de la reivindicación 1, en donde el ácido nucleico es ARNm sintético.
- 7.** El método de la reivindicación 6, en donde el ARNm sintético codifica un agente de edición de genes seleccionado de entre nucleasas efectoras similares al activador de la transcripción (TALENs); megaTALs; nucleasas de dedos de zinc y combinaciones de las mismas.
- 8.** El método de la reivindicación 6, en donde el ARNm sintético codifica una proteína alteradora del fenotipo seleccionada de entre FOXO1, LKB1, TCF7, EOMES, ID2, TERT, CCR2b, CCR4 y combinaciones de las mismas.
- 9.** El método de la reivindicación 1, en donde la población de células de origen hematopoyético seleccionadas se selecciona de entre linfocitos T, linfocitos citolíticos naturales, monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos B, o células madre hematopoyéticas.
- 10.** El método de la reivindicación 1, en donde el ligando de direccionamiento a células seleccionadas comprende un dominio de unión a CD4, o un dominio de unión a CD8.
- 11.** El método de la reivindicación 1, en donde no se realizan procesos de selección

o purificación celular que aumenten el porcentaje de la población de células seleccionadas con respecto a otras células dentro de la mezcla heterogénea antes de la etapa de administración.

12. El método para formar un nanoportador sintético dirigido a células mediante un proceso de autoensamblaje impulsado por carga que comprende:

(i) agregar ácido poliglutámico (PGA) que comprende aproximadamente 12 a 18 kDa, acoplado a un ligando de direccionamiento a células seleccionadas que une la población de células de origen hematopoyético seleccionadas a la solución que comprende ácido nucleico encapsulado dentro de un portador polimérico cargado positivamente; e

(ii) incubar la solución durante unos 5 minutos; formando así un nanoportador sintético dirigido a células en el que el nanoportador sintético dirigido a células comprende:

- (A) ácido nucleico encapsulado dentro del portador polimérico cargado positivamente;
- (B) un recubrimiento cargado de manera neutra o negativa que comprende el PGA sobre la superficie externa del portador polimérico cargado positivamente; y
- (C) el ligando de direccionamiento a células seleccionadas que se extiende desde la superficie externa del recubrimiento cargado de manera neutra o negativa y acoplado al PGA dentro del recubrimiento con carga neutra o negativa.

13. El método de la reivindicación 12, en donde el polímero cargado positivamente comprende poli(β -amino éster).

14. El método de la reivindicación 12, en donde el PGA comprende aproximadamente 15 kDa de PGA.

15. El método de la reivindicación 12, en donde el ácido nucleico codifica una megaTAL de SEQ ID NO: 1 o un receptor de antígeno quimérico humanizado codificado

por la SEQ ID NO: 37.

16. El método de la reivindicación 12, en donde el ácido nucleico es ARNm sintético.

17. El método de la reivindicación 16, en donde el ARNm sintético codifica un agente de edición de genes seleccionado de entre nucleasas efectoras de tipo activador de transcripción (TALENs); megaTALs; nucleasas de dedos de zinc y combinaciones de las mismas.

18. El método de la reivindicación 16, en el que el ARNm sintético codifica una proteína alteradora del fenotipo seleccionada de entre FOXO1, LKB1, TCF7, EOMES, ID2, TERT, CCR2b, CCR4 y combinaciones de las mismas.

19. El método de la reivindicación 12, en donde el ligando de direccionamiento a células seleccionadas comprende un dominio de unión seleccionado de entre ligando del receptor de linfocitos, anticuerpo del receptor de linfocitos, aptámero del péptido del receptor de linfocitos, aptámero de ácido nucleico del receptor de linfocitos, receptor de linfocitos Spiegelmer.

20. El método de la reivindicación 12, en donde el ligando de direccionamiento a células seleccionadas incluye un dominio de unión seleccionado de entre un anticuerpo CD4 o un anticuerpo CD8.