

REIVINDICACIONES

1. Una célula T $\gamma\delta$ que expresa una subunidad β del receptor de IL-15 recombinante (IL-15R β).
2. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 1, que expresa además una subunidad α del receptor de IL-15 recombinante (IL-15R α) o un fragmento de esta.
- 5 3. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 2, en donde la IL-15R α o un fragmento de esta está unido a una IL-15 o una variante de esta.
4. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 2 o 3, en donde la IL-15R β y la IL-15R α o un fragmento de esta se expresan en tándem.
5. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 4, que comprende además un enlazador entre IL-15R β y IL-15R α o un fragmento de esta.
- 10 6. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 5, en donde el enlazador comprende un péptido escindible.
7. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 6, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.
8. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 7, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.
9. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 8, en donde el péptido 2A es un péptido 2A del virus de la fiebre aftosa 18 (F2A), un péptido 2A del virus A de la rinitis equina (E2A), un péptido 2A del teschovirus-1 porcino (P2A) o un péptido 2A del virus thosa asigna (T2A).
- 15 10. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 9, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.
11. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que expresa además un receptor de antígeno quimérico (CAR).
- 20 12. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 11, en donde el CAR carece de un dominio de señalización intracelular.
13. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde la célula T $\gamma\delta$ carece de un gen endógeno que codifica IL-15.
14. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, que expresa además una IL-15 secretada o una variante de esta.
- 25 15. Una célula T $\gamma\delta$ que expresa una IL-15R β recombinante y una IL-15 recombinante o una variante de esta.
16. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 15, en donde la IL-15R β y la IL-15 o una variante de esta se expresan en tándem.
- 30 17. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 16, que comprende además un enlazador entre la IL-15R β y la IL-15 o una variante de esta.
18. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 17, en donde el enlazador comprende un péptido escindible.
19. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 18, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.
- 35 20. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 19, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.

21. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 20, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.
22. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 21, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.
23. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 15-22, que expresa además una IL-15R α recombinante o un fragmento de esta.
24. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 23, en donde el fragmento de IL-15R α comprende un fragmento soluble.
25. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 24, en donde el fragmento soluble comprende un dominio sushi.
26. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 25, en donde el dominio sushi está unido a un dominio Fc.
27. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 23-26, en donde la IL-15R α o un fragmento de esta está unido a la IL-15 o una variante de esta.
28. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 23-27, en donde la IL-15R β y la IL-15R α o un fragmento de esta se expresan en tándem.
29. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 28, que comprende además un segundo enlazador entre la IL-15R β y la IL-15R α o un fragmento de esta.
30. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 29, en donde el segundo enlazador comprende un péptido escindible.
31. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 30, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.
32. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 31, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.
33. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 32, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.
34. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 33, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.
35. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 23-34, en donde la IL-15R β , la IL-15 o variante de esta y la IL-15R α recombinante o un fragmento de esta se expresan en tándem.
36. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 15-35, que expresa además un CAR.
37. La célula T $\gamma\delta$ de la reivindicación 36, en donde el CAR carece de un dominio de señalización intracelular.
38. La célula T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 15-38, en donde la célula T $\gamma\delta$ carece de un gen endógeno que codifica IL-15.
39. Una población aislada de células T $\gamma\delta$, en donde al menos 10 % de la población de células T $\gamma\delta$ expresa una IL-15R β recombinante.
40. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 39, en donde al menos 50 % de la población de células T $\gamma\delta$ expresa la IL-15R β recombinante.

41. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 39 o 40, que expresa además una IL-15R α recombinante o un fragmento de esta.
42. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 39-41, en donde la IL-15R α o un fragmento de esta está unido a una IL-15 o una variante de esta.
- 5 43. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 39-42, en donde la IL-15R β y la IL-15R α o un fragmento de esta se expresan en tándem.
44. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 43, que comprende además un enlazador entre IL-15R β y IL-15R α o un fragmento de esta.
45. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 44, en donde el segundo enlazador
10 comprende un péptido escindible.
46. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 45, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.
47. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 46, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.
- 15 48. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 47, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.
49. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 48, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.
50. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 39-49, que expresa
20 además un CAR.
51. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 50, en donde el CAR carece de un dominio de señalización intracelular.
52. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 39-51, en donde las células T $\gamma\delta$ carecen de un gen endógeno que codifica IL-15.
- 25 53. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 39-52, que expresa además una IL-15 secretada o una variante de esta.
54. Una población aislada de células T $\gamma\delta$, en donde al menos 10 % de la población de células T $\gamma\delta$ expresa una IL-15R β recombinante e IL-15 o variante de esta.
55. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 54, en donde al menos 50 % de la
30 población de células T $\gamma\delta$ expresa una IL-15R β recombinante e IL-15 o variante de esta.
56. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 54 o 55, en donde la IL-15R β y la IL-15 o variante de esta se expresan en tándem.
57. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 56, que comprende además un enlazador entre la IL-15R β y el receptor de IL-15 o un fragmento de este.
- 35 58. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 57, en donde el enlazador comprende

un péptido escindible.

59. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 58, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.

60. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 59, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.

61. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 60, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.

62. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 61, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.

63. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 54-62, que expresa además una IL-15R α recombinante o un fragmento de esta.

64. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 63, en donde el fragmento de la IL-15R α comprende un fragmento soluble.

65. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 64, en donde el fragmento soluble comprende un dominio sushi.

66. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 65, en donde el dominio sushi está unido a un dominio Fc.

67. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 63-66, en donde la IL-15R α o fragmento de esta está unido a la IL-15 o una variante de esta.

68. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 63-67, en donde la IL-15R β y la IL-15R α o un fragmento de esta se expresan en tándem.

69. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 68, que comprende además un segundo enlazador entre IL-15R β y IL-15R α o un fragmento de esta.

70. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 69, en donde el segundo enlazador comprende un péptido escindible.

71. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 70, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.

72. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 71, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.

73. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 72, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.

74. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 73, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.

75. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 63-74, en donde la IL-15R β , la IL-15 o variante de esta y la IL-15R α recombinante o un fragmento de esta se expresan en

tándem.

76. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 54-75, que expresa además un CAR.

77. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de la reivindicación 76, en donde el CAR carece de un dominio de señalización intracelular.

78. La población aislada de células T $\gamma\delta$ de cualquiera de las reivindicaciones 54-77, en donde la célula T $\gamma\delta$ carece de un gen endógeno que codifica IL-15.

79. Un método para producir una población de células T $\gamma\delta$ que expresan un IL-15R β , donde el método comprende:

- (a) proporcionar una población de células T $\gamma\delta$; y
- (b) modificar la población de células T $\gamma\delta$ con un polinucleótido que codifica la IL-15R β , produciendo así la población de células T $\gamma\delta$ que expresan la IL-15R β recombinante.

80. El método de la reivindicación 79, en donde el polinucleótido comprende un IRES conectado operativamente a la IL-15R β .

81. El método de la reivindicación 79 u 80, que comprende además transducir la población inicial de células T $\gamma\delta$ con un polinucleótido que codifica una IL-15R α o un fragmento de esta.

82. El método de cualquiera de las reivindicaciones 79-81, en donde la IL-15R α o un fragmento de esta está unido a la IL-15 o una variante de esta.

83. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 79-82, en donde el polinucleótido codifica la IL-15R β y la IL-15R α en tándem.

84. El método de la reivindicación 83, en donde el polinucleótido comprende un enlazador entre la IL-15R β y la IL-15R α .

85. El método de la reivindicación 84, en donde el enlazador codifica un péptido escindible o comprende un IRES.

86. El método de la reivindicación 85, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.

87. El método de la reivindicación 86, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.

88. El método de la reivindicación 87, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.

89. El método de la reivindicación 88, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.

90. El método de cualquiera de las reivindicaciones 79-89, que comprende además transducir la célula con un polinucleótido que codifica un CAR.

91. El método de la reivindicación 90, en donde el polinucleótido codifica el CAR y la IL-15R β en tándem.

92. El método de la reivindicación 91, en donde el polinucleótido comprende un enlazador entre el CAR y la IL-15R β .

93. El método de la reivindicación 92, en donde el enlazador codifica un péptido escindible o comprende un IRES.
94. El método de la reivindicación 93, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.
95. El método de la reivindicación 94, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.
- 5 96. El método de la reivindicación 95, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.
97. El método de la reivindicación 96, en donde el péptido 2A es un péptido T2A.
98. Un método para producir una población de células T $\gamma\delta$ que expresan una IL-15R β recombinante y una IL-15 o variante de esta, donde el método comprende:
- 10 (a) proporcionar una población de células T $\gamma\delta$;
- (b) modificar la población de células T $\gamma\delta$ con un polinucleótido que codifica la IL-15R β ; y
- (c) modificar la población de células T $\gamma\delta$ con un polinucleótido que codifica la IL-15 o una variante de esta, produciendo así la población de células T $\gamma\delta$ que expresan la IL-15R β recombinante y la IL-15 o una variante de esta.
- 15 99. El método de la reivindicación 97, en donde el polinucleótido comprende un IRES conectado operativamente a la IL-15R β y/o la IL-15 o variante de esta.
100. El método de la reivindicación 98, en donde el polinucleótido codifica la IL-15R β y la IL-15 o variante de esta en tándem.
101. El método de la reivindicación 100, en donde el polinucleótido comprende un enlazador entre
- 20 la IL-15R β y la IL-15 o variante de esta.
102. El método de la reivindicación 101, en donde el enlazador codifica un péptido escindible o comprende un IRES.
103. El método de la reivindicación 102, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.
104. El método de la reivindicación 103, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.
- 25 105. El método de la reivindicación 104, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.
106. El método de la reivindicación 105, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.
107. El método de cualquiera de las reivindicaciones 98-106, que comprende además modificar la población inicial de células T $\gamma\delta$ con un polinucleótido que codifica una IL-15R α o un fragmento de
- 30 esta.
108. El método de la reivindicación 107, en donde el fragmento de la IL-15R α comprende un fragmento soluble.
109. El método de la reivindicación 108, en donde el fragmento soluble comprende un dominio sushi.
110. El método de la reivindicación 109, en donde el dominio sushi está unido a un dominio Fc.
- 35 111. El método de cualquiera de las reivindicaciones 107-110, en donde la IL-15R α o un fragmento

de esta está unido a la IL-15 o una variante de esta.

112. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 107-111, en donde el polinucleótido codifica la IL-15R β y la IL-15R α en tándem.

113. El método de la reivindicación 112, en donde el polinucleótido comprende un segundo
5 enlazador entre la IL-15R β y la IL-15R α .

114. El método de la reivindicación 113, en donde el segundo enlazador codifica un péptido escindible o comprende un IRES.

115. El método de la reivindicación 114, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.

116. El método de la reivindicación 115, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.

10 117. El método de la reivindicación 116, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.

118. El método de la reivindicación 117, en donde el péptido 2A es un péptido P2A.

119. El método de cualquiera de las reivindicaciones 107-118, en donde el polinucleótido codifica la IL-15R β , la IL-15 o una variante de esta, y la IL-15R α recombinante o un fragmento de esta en
15 tándem.

120. El método de cualquiera de las reivindicaciones 98-119, que comprende además modificar la célula con un polinucleótido que codifica un CAR.

121. El método de la reivindicación 120, en donde el polinucleótido codifica el CAR y la IL-15R β en tándem.

20 122. El método de la reivindicación 121, en donde el polinucleótido comprende un enlazador entre el CAR y la IL-15R β .

123. El método de la reivindicación 122, en donde el enlazador codifica un péptido escindible o comprende un IRES.

124. El método de la reivindicación 123, en donde el péptido escindible es un péptido autoescindible.

25 125. El método de la reivindicación 124, en donde el péptido autoescindible es un péptido 2A.

126. El método de la reivindicación 125, en donde el péptido 2A es un péptido F2A, un péptido E2A, un péptido P2A o un péptido T2A.

127. El método de la reivindicación 126, en donde el péptido 2A es un péptido T2A.

128. El método de cualquiera de las reivindicaciones 79-127, en donde el método comprende
30 proporcionar un vector que comprende el polinucleótido.

129. El método de la reivindicación 128, en donde el vector es un vector viral.

130. El método de la reivindicación 129, en donde el vector viral es un virus de la familia Retroviridae, un adenovirus, un parvovirus, un coronavirus, un rabdovirus, un paramixovirus, un picornavirus, un alfavirus, un virus del herpes o un poxvirus.

35 131. El método de la reivindicación 130, en donde el vector viral parvovirus es un vector AAV.

132. El método de la reivindicación 130, en donde el vector viral es un vector viral de la familia Retroviridae.
133. El método de la reivindicación 132, en donde el vector viral de la familia Retroviridae es un vector lentiviral.
- 5 134. El método de la reivindicación 132, en donde el vector viral de la familia Retroviridae es un vector alfaretroviral o un vector gammaretroviral.
135. El método de cualquiera de las reivindicaciones 132-134, en donde el vector viral de la familia Retroviridae comprende un tracto de polipurina central, un elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis de la marmota, una secuencia de señal de VIH LTR en 5', un sitio de empalme en 5' de la señal Psi de VIH, elemento delta-GAG, sitio de empalme en 3' y un LTR autoinactivante en 3'.
- 10 136. El método de cualquiera de las reivindicaciones 129-135, en donde el vector es un vector viral pseudotipado.
137. El método de la reivndicación 136, en donde el vector viral pseudotipado es un adenovirus pseudotipado, un parvovirus pseudotipado, un coronavirus pseudotipado, un rhabdovirus pseudotipado, un paramixovirus pseudotipado, un picornavirus pseudotipado, un alfavirus pseudotipado, un virus del herpes pseudotipado, un poxvirus pseudotipado o un virus de la familia Retroviridae pseudotipado.
- 15 138. El método de cualquiera de la reivindicación 137, en donde el vector pseudotipado es un vector lentiviral.
- 20 139. El método de cualquiera de las reivindicaciones 136-138, en donde el vector viral pseudotipado comprende una o más proteínas de envoltura de un virus seleccionado de virus de estomatitis vesicular VSV, virus RD114, MLV, FeLV, VEE, HFV, WDSV, SFV, virus de la rabia, ALV, BIV, BLV, EBV, CAEV, SNV, ChTLV, STLV, MPMV, SMRV, RAV, FuSV, MH2, AEV, AMV, virus CT10 del sarcoma aviar y EIAV.
- 25 140. El método de la reivindicación 139, en donde el vector viral pseudotipado comprende una proteína de envoltorio VSV-G.
141. El método de cualquiera de las reivindicaciones 79-140, que comprende además cultivar la población inicial de células T $\gamma\delta$ en presencia de IL-2 y/o IL-15 exógenas.
- 30 142. El método de cualquiera de las reivindicaciones 79-141, en donde al menos 10 % de la población de células T $\gamma\delta$ expresa la IL-15R β .
143. El método de la reivindicación 142, en donde al menos 50 % de la población de células T $\gamma\delta$ expresa la IL-15R β .
144. Un método que expande las células T $\gamma\delta$ que comprende:
- 35 (a) proporcionar una población de células T $\gamma\delta$ que expresan una IL-15R β ; y

(b) cultivar la población de células T $\gamma\delta$ en presencia de IL-2 y/o IL-15 exógenas o una variante de estas.

145. El método de la reivindicación 144, en donde la población de células T $\gamma\delta$ expresa además una IL-15R α recombinante o un fragmento de esta.

5 146. El método de cualquiera de las reivindicaciones 107-143 y 145, en donde la IL-15R α o un fragmento de esta está unido a IL-15 o una variante de esta.

147. Un método que expande las células T $\gamma\delta$ que comprende:

(a) proporcionar una población de células T $\gamma\delta$ que expresan una IL-15R β e IL-15 o una variante de estas; y

10 (b) cultivar las células T $\gamma\delta$, en donde la IL-15 o variante de esta expande la población de células T $\gamma\delta$.

148. El método de la reivindicación 147, que comprende además cultivar la población de células T $\gamma\delta$ en presencia de IL-2 exógena.

15 149. El método de cualquier reivindicación 147 o 148, en donde la población de células T $\gamma\delta$ expresa además una IL-15R α recombinante o un fragmento de esta.

150. El método de la reivindicación 149, en donde el fragmento de la IL-15R α comprende un fragmento soluble.

151. El método de la reivindicación 151, en donde el fragmento soluble comprende un dominio sushi.

152. El método de la reivindicación 152, en donde el dominio sushi está unido a un dominio Fc.

20 153. El método de cualquiera de las reivindicaciones 149-152, en donde la IL-15R α o un fragmento de esta está unido a IL-15 o una variante de esta.