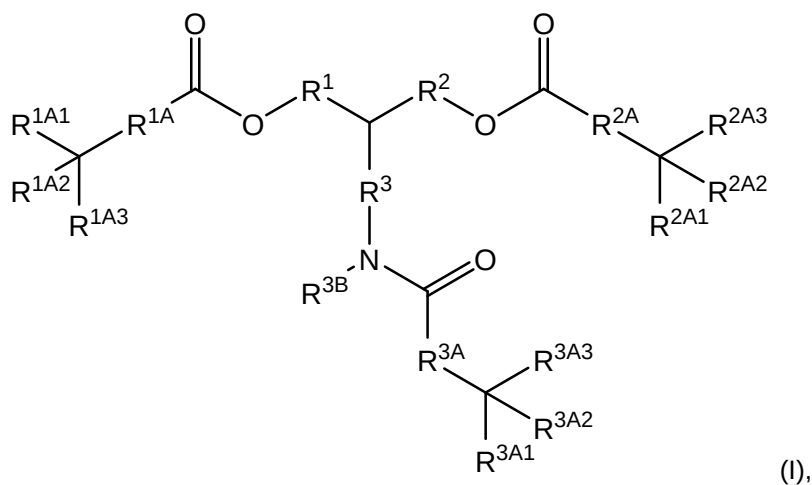


REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I):



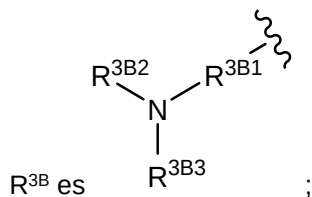
o una sal del mismo, en donde:

R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno independientemente un enlace o alquileo C_{1-3} ;

R^{1A} , R^{2A} , y R^{3A} son cada uno independientemente un enlace o alquileo C_{1-10} ;

R^{1A1} , R^{1A2} , R^{1A3} , R^{2A1} , R^{2A2} , R^{2A3} , R^{3A1} , R^{3A2} , y R^{3A3} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-20} , alquenilo C_{1-20} , $-(CH_2)_{0-10}C(O)OR^{a1}$, o $-(CH_2)_{0-10}OC(O)R^{a2}$;

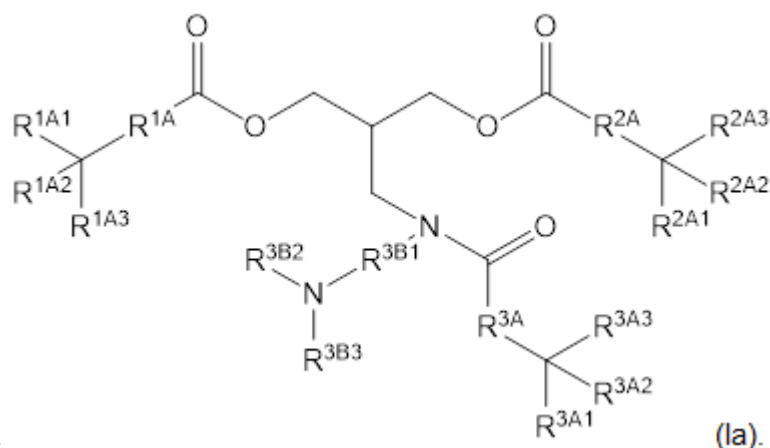
R^{a1} y R^{a2} son cada uno independientemente alquilo C_{1-20} o alquenilo C_{1-20} ;



R^{3B1} es alquileo C_{1-6} ; y

R^{3B2} y R^{3B3} son cada uno independientemente H o alquilo C_{1-6} .

2. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo, en donde el compuesto es



un compuesto de Fórmula (Ia):

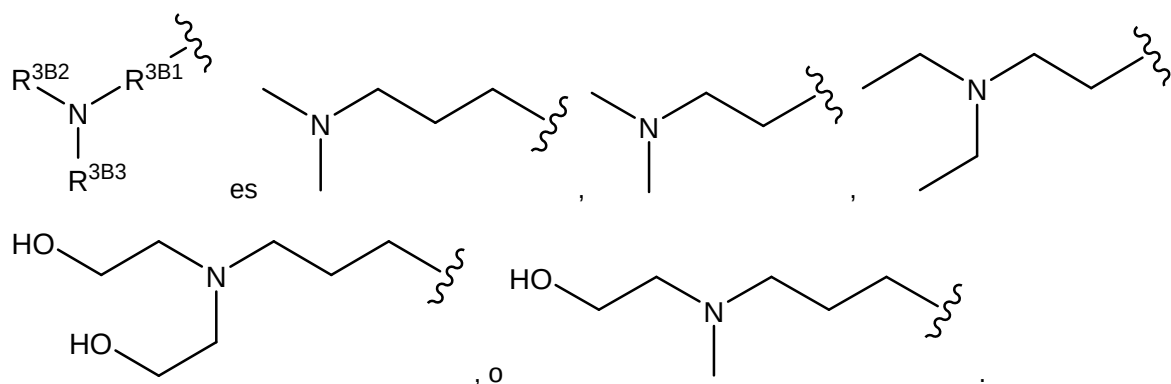
3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, o una sal del mismo, en donde R^{3B1} es etileno o propileno.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo, en donde R^{3B2} y R^{3B3} son cada uno independientemente H o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes cada uno seleccionado independientemente del grupo que consiste en -OH y -O-(alquilo C_{1-6}).

5. El compuesto de la reivindicación 4, o una sal del mismo, en donde R^{3B2} y R^{3B3} son cada uno independientemente metilo o etilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más -OH.

6. El compuesto de la reivindicación 5, o una sal del mismo, en donde R^{3B2} y R^{3B3} son cada uno metilo no sustituido.

7. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, o una sal del mismo, en donde

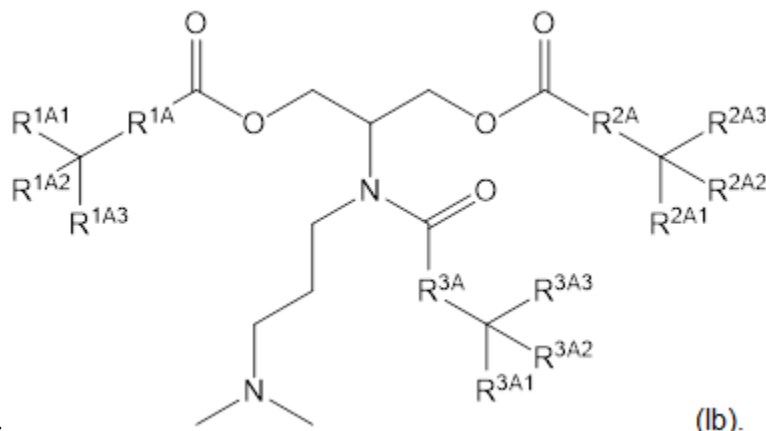


8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal del mismo, en donde R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno independientemente un enlace o metileno.

9. El compuesto de la reivindicación 8, o una sal del mismo, en donde R^1 y R^2 son cada uno metileno y R^3 es un enlace.

10. El compuesto de la reivindicación 8, o una sal del mismo, en donde R^1 , R^2 , y R^3 son cada uno metileno.

11. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo, en donde el compuesto es



un compuesto de Fórmula (Ib):

(Ib).

12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo, en donde R^{1A} , R^{2A} , y R^{3A} son cada uno independientemente un enlace o $-(CH_2)_{1-10}-$.

13. El compuesto de la reivindicación 12, o una sal del mismo, en donde R^{1A} y R^{2A} son cada uno independientemente un enlace, $-CH_2-$, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_6-$, $-(CH_2)_7-$, $-(CH_2)_8-$, o $-(CH_2)_9-$.

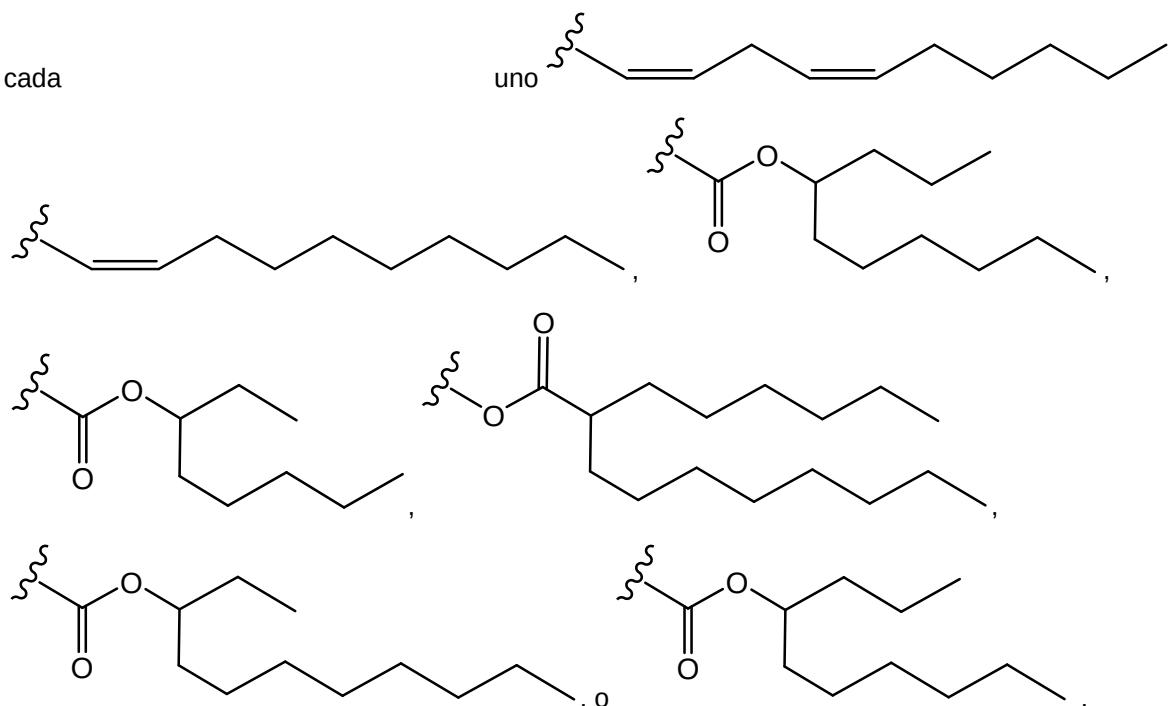
14. El compuesto de la reivindicación 13, o una sal del mismo, en donde R^{1A} y R^{2A} son cada uno independientemente un enlace, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_6-$, $-(CH_2)_7-$, o $-(CH_2)_8-$.

15. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, o una sal del mismo, en donde R^{3A} es un enlace, $-CH_2-$, $-(CH_2)_2-$, o $-(CH_2)_7-$.

16. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} , R^{1A2} , R^{1A3} , R^{2A1} , R^{2A2} , y R^{2A3} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-15} , $-CH=CH-(alquilo\ C_{1-15})$, $-CH=CH-CH_2-CH=CH-(alquilo\ C_{1-10})$, $-(CH_2)_{0-4}C(O)OCH(alquilo\ C_{1-10})(alquilo\ C_{1-15})$, $-(CH_2)_{0-4}OC(O)CH(alquilo\ C_{1-10})(alquilo\ C_{1-15})$, $-(CH_2)_{0-4}C(O)OCH_2(alquilo\ C_{1-15})$, o $-(CH_2)_{0-4}OC(O)CH_2(alquilo\ C_{1-15})$.

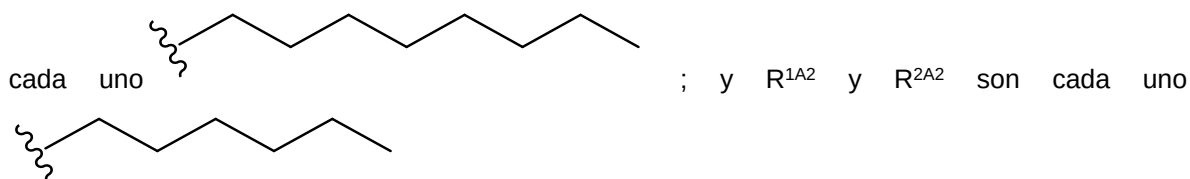
17. El compuesto de la reivindicación 16, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} y R^{2A1} son cada uno independientemente $-CH=CH-(alquilo\ C_{1-15})$, $-CH=CH-CH_2-CH=CH-(alquilo\ C_{1-10})$, $-(CH_2)_{0-4}C(O)OCH(alquilo\ C_{1-10})(alquilo\ C_{1-15})$, o $-(CH_2)_{0-4}OC(O)CH(alquilo\ C_{1-10})(alquilo\ C_{1-15})$; y R^{1A2} , R^{1A3} , R^{2A2} , y R^{2A3} son cada uno H.

18. El compuesto de la reivindicación 17, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} y R^{2A1} son cada uno



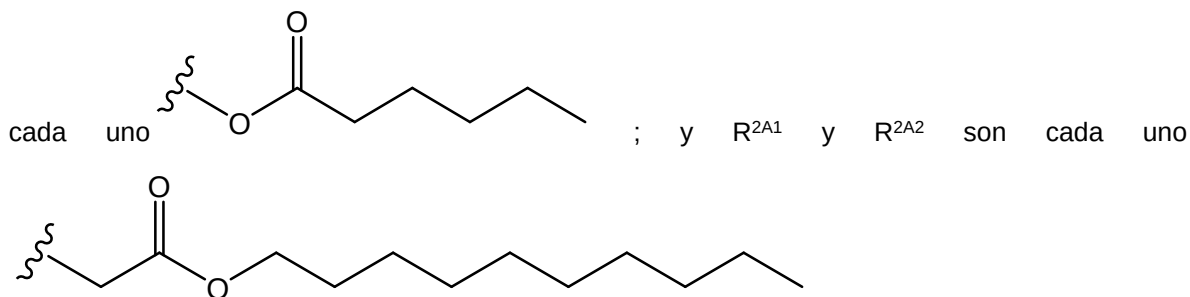
19. El compuesto de la reivindicación 16, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} and R^{2A1} son cada uno alquilo C_{1-15} ; R^{1A2} y R^{2A2} son cada uno alquilo C_{1-15} ; y R^{1A3} y R^{2A3} son cada uno H.

20. El compuesto de la reivindicación 19, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} y R^{2A1} son



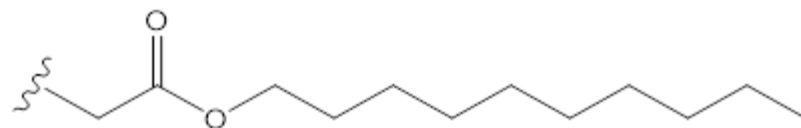
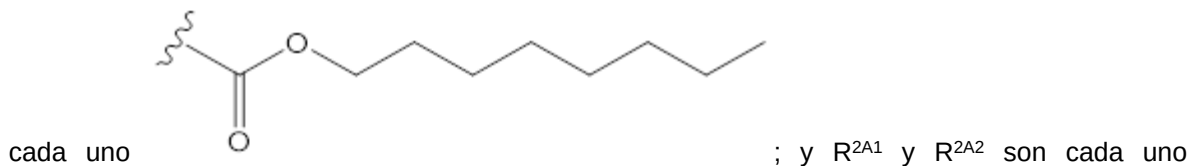
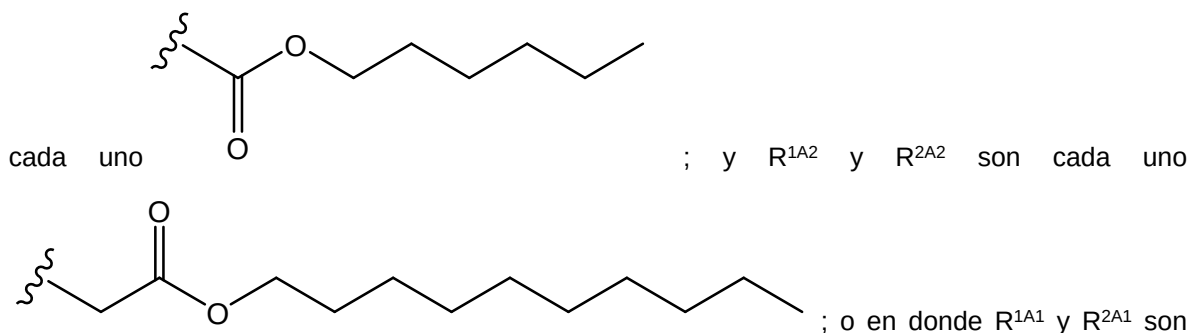
21. El compuesto de la reivindicación 16, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} y R^{2A1} son cada uno $-(CH_2)_{0-4}OC(O)CH_2(\text{alquilo } C_{1-15})$; R^{2A1} y R^{2A2} son cada uno $-(CH_2)_{0-4}C(O)OCH_2(\text{alquilo } C_{1-15})$; y R^{1A3} y R^{2A3} son cada uno H.

22. El compuesto de la reivindicación 21, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} y R^{2A1} son



23. El compuesto de la reivindicación 16, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} y R^{2A1} son cada uno $-C(O)OCH_2(\text{alquilo } C_{1-15})$; R^{1A2} y R^{2A2} son cada uno $-(CH_2)_{0-4}C(O)OCH_2(\text{alquilo } C_{1-15})$; y R^{1A3} y R^{2A3} son cada uno H.

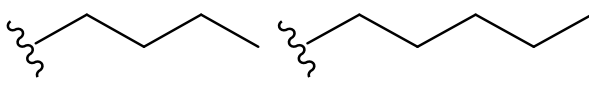
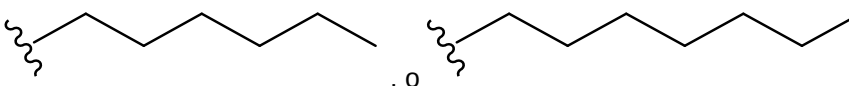
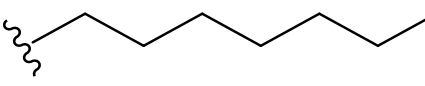
24. El compuesto de la reivindicación 23, o una sal del mismo, en donde R^{1A1} y R^{2A1} son



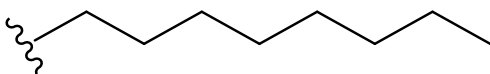
25. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, o una sal del mismo, en donde R^{3A1} , R^{3A2} , y R^{3A3} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-15} , $-(CH_2)_0$.

${}^4\text{C}(\text{O})\text{OCH}(\text{alquilo } \text{C}_{1-5})(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$, $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{CH}(\text{alquilo } \text{C}_{1-5})(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$, $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$, o $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{CH}_2(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$.

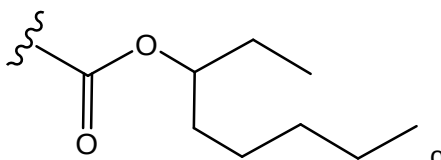
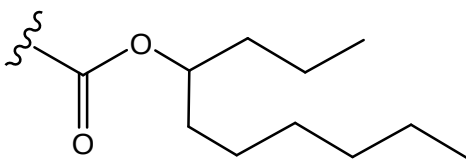
26. El compuesto de la reivindicación 25, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ y $\text{R}^{3\text{A}2}$ son cada uno independientemente alquilo C_{1-15} ; y $\text{R}^{3\text{A}3}$ es H.

27. El compuesto de la reivindicación 26, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ y $\text{R}^{3\text{A}2}$ son cada uno independientemente etilo, , , o .

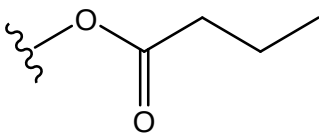
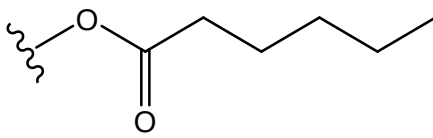
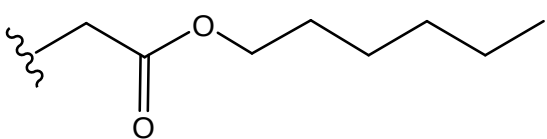
28. El compuesto de la reivindicación 25, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ es alquilo C_{1-15} ; y $\text{R}^{3\text{A}2}$ y $\text{R}^{3\text{A}3}$ son cada uno H.

29. El compuesto de la reivindicación 28, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ es .

30. El compuesto de la reivindicación 25, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ es $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}(\text{alquilo } \text{C}_{1-5})(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$; y $\text{R}^{3\text{A}2}$ y $\text{R}^{3\text{A}3}$ son cada uno H.

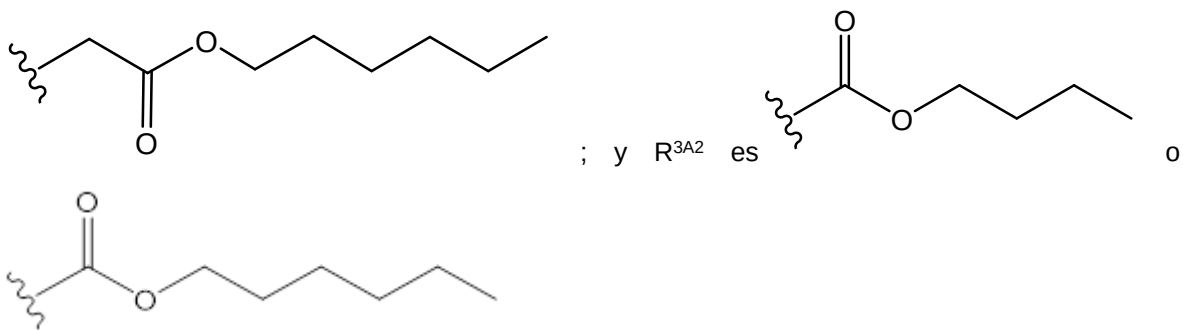
31. El compuesto de la reivindicación 30, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ es  o .

32. El compuesto de la reivindicación 25, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ es $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{CH}_2(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$; $\text{R}^{3\text{A}2}$ es $-(\text{CH}_2)_{0-4}(\text{O})\text{OCH}_2(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$; y $\text{R}^{3\text{A}3}$ es H.

33. El compuesto de la reivindicación 32, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ es  o ; y $\text{R}^{3\text{A}2}$ es .

34. El compuesto de la reivindicación 25, o una sal del mismo, en donde $\text{R}^{3\text{A}1}$ es $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$; $\text{R}^{3\text{A}2}$ es $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2(\text{alquilo } \text{C}_{1-10})$; y $\text{R}^{3\text{A}3}$ es H.

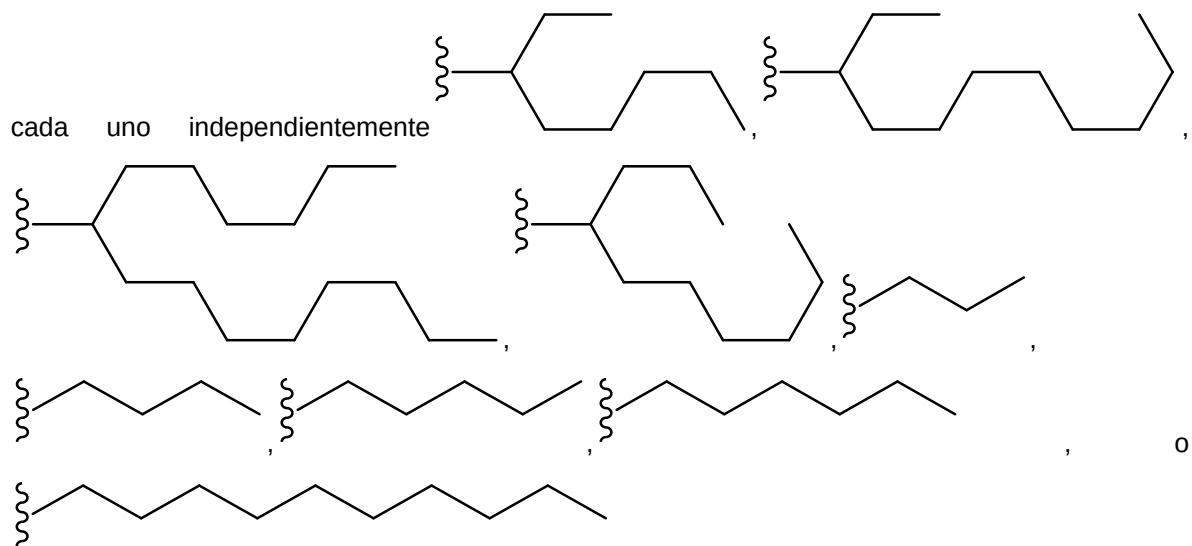
35. El compuesto de la reivindicación 34, o una sal del mismo, en donde R^{3A1} es



36. El compuesto de la reivindicación 25, o una sal del mismo, en donde R^{3A1} , R^{3A2} , y R^{3A3} son cada uno H.

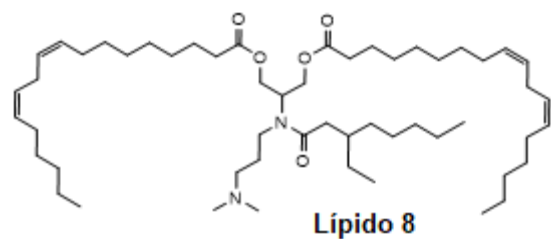
37. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, o una sal del mismo, en donde R^{a1} y R^{a2} son cada uno independientemente $-(CH_2)_{0-15}CH_3$ o $-CH(\text{alquilo } C_{1-10})(\text{alquilo } C_{1-15})$.

38. El compuesto de la reivindicación 37, o una sal del mismo, en donde R^{a1} y R^{a2} son

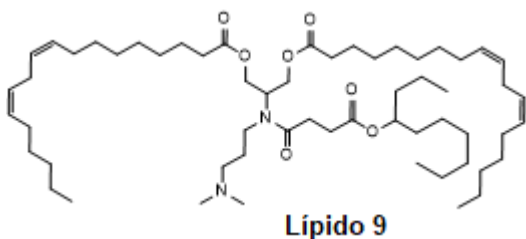


39. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo, en donde el compuesto se selecciona de la Tabla 1.

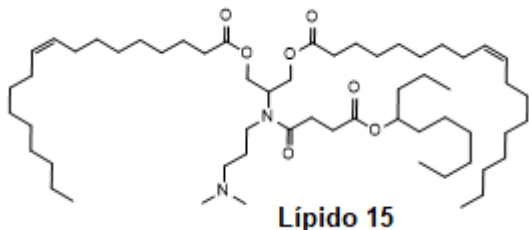
40. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo, en donde el compuesto es



41. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo, en donde el compuesto es



42. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo, en donde el compuesto es



43. Una nanopartícula lipídica (LNP) que comprende una mezcla lipídica para la administración dirigida de un ácido nucleico en una célula inmune, comprendiendo la mezcla lipídica:

(a) un conjugado lípido-grupo de direccionamiento a células inmunes que comprende el compuesto de Fórmula (II): [Lípido] - [enlazador opcional] - [grupo de direccionamiento a células inmunes], y

(b) un lípido catiónico ionizable que comprenda uno cualquiera de los compuestos de las reivindicaciones 1 a 42,

en donde la LNP contiene además un ácido nucleico dispuesto en la misma.

44. La LNP de la reivindicación 43, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un anticuerpo que se une a un antígeno de células T.

45. La LNP de la reivindicación 44, en donde el antígeno de células T es CD3, CD4, CD7, CD8, o una combinación de los mismos (p. ej., tanto CD3 como CD8, tanto CD4 como CD8, o tanto CD7 como CD8).

46. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 45, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un anticuerpo que se une a un antígeno de células Asesinas Naturales (NK).

47. La LNP de la reivindicación 46, en donde el antígeno de células NK es CD7, CD8, CD56 o una combinación de los mismos (p. ej., tanto CD7 como CD8).

48. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 47, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes se acopla covalentemente a un lípido de la mezcla lipídica mediante un enlazador que contiene polietilenglicol (PEG).

49. La LNP de la reivindicación 48, en donde el lípido acoplado covalentemente al grupo de direccionamiento a células inmunes mediante un enlazador que contiene PEG es diestearoilglicerol (DSG), diestearoil-fosfatidiletanolamina (DSPE), dimiristoil-fosfatidiletanolamina

(DMPE), diestearoil-glicero-fosfoglicerol (DSPG), dimiristoil-glicerol (DMG), dipalmitoil-fosfatidiletanolamina (DPPE), dipalmitoil-glicerol (DPG) o ceramida.

50. La LNP de la reivindicación 48 o 49, en donde el PEG es PEG 2000 o PEG 3400.

51. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 50, en donde el conjugado lípido-grupo de direccionamiento a células inmunes está presente en la mezcla lipídica en un rango de 0.001 a 0.5 por ciento en moles (p. ej., 0.002-0.2 por ciento en moles).

52. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 51, en donde la mezcla lipídica comprende además uno o más de un lípido estructural (p. ej., un estero), un fosfolípido neutro y un PEG-lípido libre.

53. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 52, en donde el lípido catiónico ionizable está presente en la mezcla lipídica en un rango de 30-70 (p. ej., 40-60) por ciento en moles.

54. La LNP de la reivindicación 52, en donde el estero está presente en la mezcla lipídica en un rango de 20-70 (p. ej., 30-50) por ciento en moles.

55. La LNP de la reivindicación 52 o 54, en donde el estero es colesterol.

56. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 52 a 55, en donde el fosfolípido neutro se selecciona del grupo que consiste en fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC) y esfingomiolina.

57. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 52 a 56, en donde el fosfolípido neutro está presente en la mezcla lipídica en un rango de 5-15 por ciento en moles.

58. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 52 a 57, en donde el PEG-lípido libre se selecciona del grupo que consiste en fosfatidiletanolaminas modificadas con PEG, ácidos fosfatídicos modificados con PEG, ceramidas modificadas con PEG, dialquilaminas modificadas con PEG, diacilgliceroles modificados con PEG y dialquiligliceroles modificados con PEG. Por ejemplo, un lípido PEG puede ser PEG- dioleoilglicerol (PEG-DOG), PEG-dimiristoilglicerol (PEG-DMG), PEG-dipalmitoilglicerol (PEG-DPG), PEG-dilinoilglicerol-fosfatidiletanolamina (PEG-DLPE), PEG-dimiristoil-fosfatidiletanolamina (PEG-DMPE), PEG-dipalmitoil-fosfatidiletanolamina (PEG-DPPE), PEG-diestearoilglicerol (PEG-DSG), PEG-diacilglicerol (PEG-DAG, p. ej., PEG-DMG, PEG-DPG y PEG-DSG), PEG-ceramida, PEG-diestearoil-glicero-fosfoglicerol (PEG-DSPG), PEG-dioleoil-glicero-fosfoetanolamina (PEG-DOPE), 2-[(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditradecilacetamida o un lípido de PEG-diestearoil-fosfatidiletanolamina (PEG-DSPE).

59. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 52 a 57, en donde el PEG-lípido libre comprende una diacilfosfatidiletanolamina que comprende una cadena Dipalmitoil (C16) o una cadena Diestearoil (C18), y opcionalmente el PEG-lípido libre comprende PEG-DPG y PEG-DMG.

60. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 52 a 59, en donde el PEG-lípido libre está presente en la mezcla lipídica en un rango de 1-4 por ciento en moles.

61. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 52 a 60, en donde el PEG-lípido libre comprende el mismo lípido o un lípido diferente que el lípido del conjugado lípido-grupo de direccionamiento a células inmunes.

62. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 61, en donde la LNP tiene un diámetro medio en el rango de 50-200 nm.

63. La LNP de la reivindicación 62, en donde la LNP tiene un diámetro medio de aproximadamente 100 nm.

64. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 63, en donde la LNP tiene un índice de polidispersidad en un rango de 0.05 a 1.

65. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 64, en donde la LNP tiene un potencial zeta de aproximadamente +10 mV a aproximadamente + 30 mV a pH 5.

66. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 65, en donde el ácido nucleico es ADN o ARN.

67. La LNP de la reivindicación 66, en donde el ARN es un ARNm.

68. La LNP de la reivindicación 67, en donde el ARNm codifica un receptor, un factor de crecimiento, una hormona, una citoquina, un anticuerpo, un antígeno, una enzima o una vacuna.

69. La LNP de la reivindicación 67, en donde el ARNm codifica un polipéptido capaz de regular la respuesta inmune en la célula inmune.

70. La LNP de la reivindicación 67, en donde el ARNm codifica un polipéptido capaz de reprogramar la célula inmune.

71. La LNP de la reivindicación 69, en donde el ARNm codifica un receptor sintético de células T (sinTCR) o un receptor de antígeno quimérico (CAR).

72. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 71, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un anticuerpo, y el anticuerpo es un Fab o un dominio variable único de inmunoglobulina (p. ej., un Nanocuerpo).

73. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 71, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un fragmento Fab, F(ab')₂, Fab'-SH, Fv o scFv.

74. La LNP de la reivindicación 72 o de la reivindicación 73, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un Fab diseñado por ingeniería para eliminar el enlace disulfuro natural entre cadenas en el extremo C.

75. La LNP de la reivindicación 74, en donde el Fab comprende un fragmento de cadena pesada que comprende la sustitución C233S, y un fragmento de cadena ligera que comprende la sustitución C214S, numeración según Kabat.

76. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 73 a 75, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un Fab que tiene un enlace disulfuro entre cadenas no natural (p. ej., un enlace disulfuro entre cadenas diseñado por ingeniería, enterrado).

77. La LNP de la reivindicación 76, en donde el Fab comprende la sustitución F174C en el fragmento de cadena pesada, y la sustitución S176C en el fragmento de cadena ligera, numeración según Kabat.

78. La LNP de las reivindicaciones 73 a 77, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un Fab que comprende una cisteína en el extremo C del fragmento de cadena pesada o ligera.

79. La LNP de la reivindicación 78, en donde el Fab comprende además uno o más aminoácidos entre el fragmento de cadena pesada del Fab y la cisteína C-terminal.

80. La LNP de la reivindicación 72, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un dominio variable único de inmunoglobulina.

81. La LNP de la reivindicación 72 u 80, en donde el dominio variable único de inmunoglobulina comprende una cisteína en el extremo C.

82. La LNP de la reivindicación 81, en donde el dominio variable único de inmunoglobulina comprende un dominio VHH y comprende además un espaciador que comprende uno o más aminoácidos entre el dominio VHH y la cisteína C-terminal.

83. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 73 y 80 a 82, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende dos o más dominios V_{HH} .

84. La LNP de la reivindicación 83, en donde los dos o más dominios V_{HH} están unidos por un enlazador de aminoácidos.

85. La LNP de la reivindicación 83, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un primer dominio V_{HH} unido a un dominio CH1 de anticuerpo y un segundo dominio V_{HH} unido a un dominio constante de cadena ligera de anticuerpo, y en donde el dominio CH1 de anticuerpo y el dominio constante de cadena ligera de anticuerpo están unidos por uno o más enlaces disulfuro.

86. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 72 y 80 a 82, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un dominio V_{HH} unido a un dominio CH1 de anticuerpo, y en donde el dominio CH1 de anticuerpo está unido a un dominio constante de cadena ligera de anticuerpo por uno o más enlaces disulfuro.

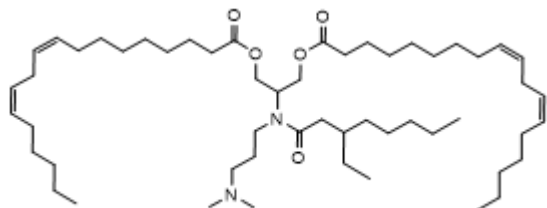
87. La LNP de la reivindicación 85 u 86, en donde el dominio CH1 comprende las sustituciones F174C y C233S, y el dominio constante de cadena ligera comprende las sustituciones S176C y C214S, numeración según Kabat.

88. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 69, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un Fab que comprende:

(a) un fragmento de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y un fragmento de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 o 3; o

(b) un fragmento de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 y un fragmento de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

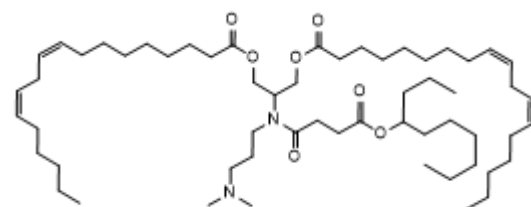
89. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 88, en donde el lípido



Lípido 8

catiónico ionizable es

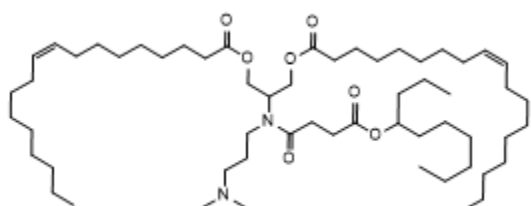
90. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 88, en donde el lípido



Lípido 9

catiónico ionizable es

91. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 88, en donde el lípido



Lípido 15

catiónico ionizable es

92. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 91, en donde la LNP comprende:

- (a) el lípido catiónico ionizable,
- (b) el conjugado que comprende el compuesto de la fórmula siguiente:
[Lípido] - [enlazador opcional] - [grupo de direccionamiento a células inmunes];
- (c) un esteroide u otro lípido estructural;
- (d) un fosfolípido neutro
- (e) un lípido polietilenglicol (PEG) libre, y
- (f) el ácido nucleico.

93. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP es para administrar un ácido nucleico a una célula inmune, y en donde la célula inmune es una célula NK, y el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un anticuerpo que se une a CD56.

94. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP es para administrar un ácido nucleico a una célula inmune, y en donde el grupo de direccionamiento a células

inmunes comprende un anticuerpo que se une a CD7 o CD8, y el lípido PEG libre es DMG-PEG o PEG-DPG.

95. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un anticuerpo, y el anticuerpo es un Fab o un dominio variable único de inmunoglobulina.

96. La LNP de la reivindicación 95, en donde el Fab está diseñado por ingeniería para eliminar el disulfuro natural entre cadenas en el extremo C.

97. La LNP de la reivindicación 96, en donde el Fab comprende un fragmento de cadena pesada que comprende las sustituciones C233S, y un fragmento de cadena ligera que comprende las sustituciones C214S.

98. La LNP de la reivindicación 96, en donde el Fab comprende un disulfuro entre cadenas no natural.

99. La LNP de la reivindicación 96, en donde el Fab comprende la sustitución F174C en el fragmento de cadena pesada, y la sustitución S176C en el fragmento de cadena ligera.

100. La LNP de la reivindicación 95, en donde el anticuerpo es un dominio variable único de inmunoglobulina (ISV), y el dominio ISV es un ISV de Nanobody®.

101. La LNP de la reivindicación 100, en donde el lípido PEG libre comprende un PEG que tiene un peso molecular de al menos 2.000 daltons.

102. La LNP de la reivindicación 101, en donde el PEG tiene un peso molecular de aproximadamente 3.000 a 5.000 daltons.

103. La LNP de la reivindicación 95, en donde el anticuerpo es un Fab.

104. La LNP de la reivindicación 103, en donde el Fab se une a CD3, y el lípido PEG libre en la LNP comprende un PEG que tiene un peso molecular de aproximadamente 2.000 daltons.

105. La LNP de la reivindicación 103, en donde el Fab es un anticuerpo anti-CD4, y el lípido PEG libre en la LNP comprende un PEG que tiene un peso molecular de aproximadamente 3.000 a 3.500 daltons.

106. La LNP de la reivindicación 95, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende dos o más dominios V_{HH} .

107. La LNP de la reivindicación 106, en donde los dos o más dominios V_{HH} están unidos por un enlazador de aminoácidos.

108. La LNP de la reivindicación 107, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un primer dominio V_{HH} unido a un dominio CH1 de anticuerpo y un segundo dominio V_{HH} unido a un dominio constante de cadena ligera de anticuerpo.

109. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP es para administrar un ácido nucleico a una célula inmune, y en donde la LNP se une a CD3, y también se une a CD11a o CD18.

110. La LNP de la reivindicación 109, en donde la LNP comprende dos conjugados, en donde el primer conjugado comprende un anticuerpo que se une a CD3, y el segundo conjugado comprende un anticuerpo que se une a CD11a o CD18.

111. La LNP de la reivindicación 109, en donde la LNP comprende un conjugado, y el conjugado comprende un anticuerpo biespecífico que se une tanto a CD3 como a CD11a.

112. La LNP de la reivindicación 109, en donde la LNP comprende un conjugado, y el conjugado comprende un anticuerpo biespecífico que se une tanto a CD3 como a CD18.

113. La LNP de la reivindicación 111 o 112, en donde el anticuerpo biespecífico es un dominio variable único de inmunoglobulina o Fab-ScFv.

114. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP es para administrar un ácido nucleico a una célula inmune, y en donde la LNP se une a CD7 y CD8 de la célula inmune.

115. La LNP de la reivindicación 114, en donde la LNP comprende dos conjugados, en donde el primer conjugado comprende un anticuerpo que se une a CD7, y un segundo conjugado que se une a CD8.

116. La LNP de la reivindicación 114, en donde la LNP comprende un conjugado, en donde el conjugado comprende un anticuerpo biespecífico que se une a CD7 y CD8.

117. La LNP de la reivindicación 116, en donde el anticuerpo biespecífico es un dominio variable único de inmunoglobulina o Fab-ScFv.

118. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP se une a un primer antígeno en la superficie del primer tipo de célula inmune, y también se une a un segundo antígeno en la superficie del segundo tipo de célula inmune.

119. La LNP de la reivindicación 118, en donde los dos tipos diferentes de células inmunes son células T CD4+ y células T CD8+.

120. La LNP de la reivindicación 118, en donde la LNP comprende dos conjugados, y el primer conjugado comprende un primer anticuerpo que se une al primer antígeno del primer tipo de célula inmune, y el segundo conjugado comprende un segundo anticuerpo que se une al segundo antígeno del segundo tipo de célula inmune.

121. La LNP de la reivindicación 118, en donde la LNP comprende un conjugado, y el conjugado comprende un anticuerpo biespecífico, y el anticuerpo biespecífico se une tanto al primer antígeno en el primer tipo de célula inmune, como al segundo antígeno en el segundo tipo de células inmunes.

122. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde el anticuerpo biespecífico es un dominio variable único de inmunoglobulina o un Fab-ScFv.

123. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP es para administrar un ácido nucleico a una célula inmune, y en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un único anticuerpo que se une a CD3 o CD7.

124. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP es para administrar un ácido nucleico a una célula inmune, y en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes se une a CD7, CD8, o ambos CD7 y CD8.

125. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP es para administrar un ácido nucleico tanto a células T como a células NK, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes se une a

- (a) tanto CD3 como CD56;
- (b) tanto CD8 como CD56; o
- (c) tanto CD7 como CD56.

126. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 93 a 125, en donde la LNP tiene un diámetro medio en el rango de 50-200 nm.

127. La LNP de la reivindicación 126, donde la LNP tiene un diámetro medio de aproximadamente 100 nm.

128. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 93 a 125, en donde la LNP tiene un índice de polidispersidad en un rango de 0.05 a 1.

129. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 93 a 128, en donde la LNP tiene un potencial zeta de aproximadamente +10 mV a aproximadamente + 30 mV a pH 5.

130. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 93 a 129, en donde el ácido nucleico es ADN o ARN.

131. La LNP de la reivindicación 130, en donde el ARN es un ARNm.

132. La LNP de la reivindicación 131, en donde el ARNm codifica un receptor, un factor de crecimiento, una hormona, una citoquina, un anticuerpo, un antígeno, una enzima o una vacuna.

133. La LNP de la reivindicación 131, en donde el ARNm codifica un polipéptido capaz de regular la respuesta inmune en la célula inmune.

134. La LNP de la reivindicación 133, en donde el ARNm codifica un polipéptido capaz de reprogramar la célula inmune.

135. La LNP de la reivindicación 134, en donde el ARNm codifica un receptor sintético de células T (sinTCR) o un receptor de antígeno quimérico (CAR).

136. La LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 92, en donde la LNP es para administrar un ácido nucleico a una célula inmune, y en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un Fab que carece del enlace disulfuro nativo entre cadenas.

137. La LNP de la reivindicación 136, en donde el Fab está diseñado por ingeniería para reemplazar una o ambas cisteínas en la cadena ligera constante nativa y la cadena pesada constante nativa que forman el disulfuro entre cadenas nativo con un aminoácido distinto de la cisteína, para eliminar, por lo tanto, el enlace disulfuro entre cadenas nativo en el Fab.

138. Un método para dirigir la administración de un ácido nucleico a una célula inmune de un sujeto, que comprende poner en contacto la célula inmune con la LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 137, en donde la LNP comprende el ácido nucleico.

139. Un método para expresar un polipéptido de interés en una célula inmune diana de un sujeto, que comprende poner en contacto la célula inmune con la LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 137, en donde la LNP comprende un ácido nucleico que codifica el polipéptido.

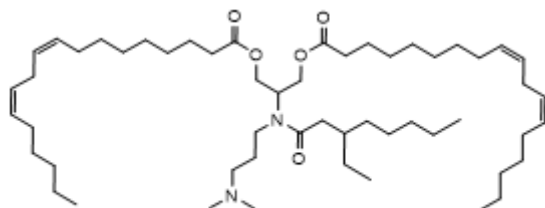
140. Un método para modular la función celular de una célula inmune diana de un sujeto, que comprende administrar al sujeto la LNP de una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 137, en donde la LNP comprende un ácido nucleico modulador de la función celular de la célula inmune.

141. Un método para tratar, mejorar o prevenir un síntoma de un trastorno o enfermedad en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una LNP para administrar un ácido nucleico a una célula inmune del sujeto, en donde la LNP es una cualquiera de las reivindicaciones 43 a 137, en donde la LNP comprende el ácido nucleico.

142. El método de la reivindicación 141, en donde el trastorno es un trastorno inmune, un trastorno inflamatorio o cáncer.

143. El método de la reivindicación 141, en donde el ácido nucleico codifica un antígeno para su uso en una vacuna terapéutica o profiláctica para tratar o prevenir una infección por un patógeno.

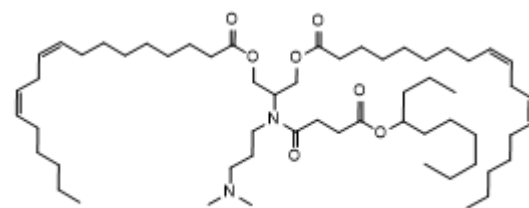
144. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 143, en donde el lípido



Lípido 8

catiónico ionizable es

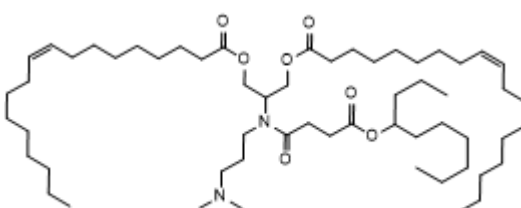
145. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 143, en donde el lípido



Lípido 9

catiónico ionizable es

146. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 143, en donde el lípido



Lípido 15

catiónico ionizable es

147. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 146, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un anticuerpo que se une a un antígeno de células T.

148. El método de la reivindicación 147, en donde el antígeno de células T es CD3, CD8, o ambos CD3 y CD8.

149. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 146, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un anticuerpo que se une a un antígeno de células Asesinas Naturales (NK).

150. El método de la reivindicación 149, en donde el antígeno de células NK es CD7, CD8 o CD56.

151. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 150, en donde el anticuerpo es un anticuerpo humano o humanizado.

152. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 151, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes se acopla covalentemente a un lípido de la mezcla lipídica mediante un enlazador que contiene polietilenglicol (PEG).

153. El método de la reivindicación 152, en donde el lípido acoplado covalentemente al grupo de direccionamiento a células inmunes mediante un enlazador que contiene PEG es diestearoilglicerol (DSG), diestearoil-fosfatidiletanolamina (DSPE), dimiristoil-fosfatidiletanolamina (DMPE), diestearoil-glicero-fosfoglicerol (DSPG), dimiristoil-glicerol (DMG), dipalmitoil-fosfatidiletanolamina (DPPE), dipalmitoil-glicerol (DPG) o ceramida.

154. El método de la reivindicación 152 o 153, en donde el PEG es PEG 2000.

155. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 154, en donde el conjugado lípido-grupo de direccionamiento a células inmunes está presente en la mezcla lipídica en un rango de 0.002-0.2 por ciento en moles.

156. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 155, en donde el lípido catiónico ionizable está presente en la mezcla lipídica en un rango de 40-60 por ciento en moles.

157. El método de la reivindicación 138 a 156, en donde el esteroil es colesterol.

158. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 49 a 157, en donde el esteroil está presente en la mezcla lipídica en un rango de 30-50 por ciento en moles.

159. El método de la reivindicación 138 a 158, en donde el fosfolípido neutro se selecciona del grupo que consiste en fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC), esfingomielina (SM).

160. El método de la reivindicación 138 a 159, en donde el fosfolípido neutro está presente en la mezcla lipídica en un rango de 5-15 por ciento en moles.

161. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 160, en donde el PEG-lípido libre se selecciona del grupo que consiste en fosfatidiletanolaminas modificadas con PEG, ácidos fosfatídicos modificados con PEG, ceramidas modificadas con PEG, dialquilaminas

modificadas con PEG, diacilglicerol modificados con PEG y dialquilglicerol modificados con PEG. Por ejemplo, un lípido PEG puede ser PEG- dioleoilglicerol (PEG-DOG), PEG-dimiristoil-glicerol (PEG-DMG), PEG-dipalmitoil-glicerol (PEG-DPG), PEG-dilinoil-glicerol-fosfatidiletanolamina (PEG-DLPE), PEG-dimiristoil-fosfatidiletanolamina (PEG-DMPE), PEG-dipalmitoil-fosfatidiletanolamina (PEG-DPPE), PEG-diestearoilglicerol (PEG-DSG), PEG-diacilglicerol (PEG-DAG, p. ej., PEG-DMG, PEG-DPG y PEG-DSG), PEG-ceramida, PEG-diestearoil-glicerol-fosfoglicerol (PEG-DSPG), PEG-dioleoil-glicerol-fosfoetanolamina (PEG-DOPE), 2-[(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditradecilacetamida o un lípido de PEG-diestearoil-fosfatidiletanolamina (PEG-DSPE).

162. El método de las reivindicaciones 138 a 160, en donde el PEG-lípido libre comprende una diacilfosfatidiletanolamina que comprende una cadena Dimiristoilo (C14), una cadena Dipalmitoilo (C16) o una cadena Diestearoilo (C18).

163. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 162, en donde el PEG-lípido libre está presente en la mezcla lipídica en un rango de 0.5-2.5 por ciento en moles.

164. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 163, en donde el PEG-lípido libre comprende el mismo lípido o un lípido diferente que el lípido del conjugado lípido-grupo de direccionamiento a células inmunes.

165. El método de las reivindicaciones 138 a 164, en donde la LNP tiene un diámetro medio en el rango de 50-200 nm.

166. El método de la reivindicación 165, donde la LNP tiene un diámetro medio de aproximadamente 100 nm.

167. El método de las reivindicaciones 138 a 166, en donde la LNP tiene un índice de polidispersidad en un rango de 0.05 a 1.

168. El método de las reivindicaciones 138 a 167, en donde la LNP tiene un potencial zeta de aproximadamente +10 mV a aproximadamente + 30 mV a pH 5.

169. El método de las reivindicaciones 138 a 168, en donde el ácido nucleico es ADN o ARN.

170. El método de la reivindicación 169, en donde el ARN es un ARNm, ARNt, ARNsi, ARNg o microARN.

171. El método de la reivindicación 170, en donde el ARNm codifica un receptor, un factor de crecimiento, una hormona, una citoquina, un anticuerpo, un antígeno, una enzima o una vacuna.

172. El método de la reivindicación 170, en donde el ARNm codifica un polipéptido capaz de regular la respuesta inmune en la célula inmune.

173. El método de la reivindicación 170, en donde el ARNm codifica un polipéptido capaz de reprogramar la célula inmune.

174. El método de la reivindicación 170, en donde el ARNm codifica un receptor sintético de células T (sinTCR) o un receptor antígeno quimérico (CAR).

175. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 174, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un anticuerpo, y el anticuerpo es un Fab o un dominio variable único de inmunoglobulina.

176. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 174, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un fragmento de anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en un fragmento Fab, F(ab')₂, Fab'-SH, Fv y scFv.

177. El método de la reivindicación 175 o 176, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un Fab que comprende uno o más enlaces disulfuro entre cadenas.

178. El método de la reivindicación 177, en donde el Fab comprende un fragmento de cadena pesada que comprende las sustituciones F174C y C233S, y un fragmento de cadena ligera que comprende las sustituciones S176C y C214S, numeración según Kabat.

179. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 175 a 178, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un Fab que comprende una cisteína en el extremo C del fragmento de cadena pesada o ligera.

180. El método de la reivindicación 175, en donde el Fab comprende además uno o más aminoácidos entre el fragmento de cadena pesada del Fab y la cisteína C-terminal.

181. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 176 a 180, en donde el Fab comprende un dominio variable de cadena pesada unido a un dominio CH1 de anticuerpo y un dominio variable de cadena ligera unido a un dominio constante de cadena ligera de anticuerpo, en donde el dominio CH1 y el dominio constante de cadena ligera están unidos por uno o más enlaces disulfuro entre cadenas, y en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende además un fragmento variable de cadena única (scFv) unido al extremo C del dominio constante de cadena ligera por un enlazador de aminoácidos.

182. El método de la reivindicación 175, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un dominio variable único de inmunoglobulina.

183. El método de la reivindicación 175 o 182, en donde el dominio variable único de inmunoglobulina comprende una cisteína en el extremo C.

184. El método de la reivindicación 183, en donde el dominio variable único de inmunoglobulina comprende un dominio V_{HH} y comprende además un espaciador que comprende uno o más aminoácidos entre el dominio V_{HH} y la cisteína C-terminal.

185. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 175 y 182 a 184, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende dos o más dominios V_{HH}.

186. El método de la reivindicación 185, en donde los dos o más dominios V_{HH} están unidos por un enlazador de aminoácidos.

187. El método de la reivindicación 185, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un primer dominio V_{HH} unido a un dominio CH1 de anticuerpo y un segundo dominio V_{HH} unido a un dominio constante de cadena ligera de anticuerpo, y en donde el dominio

CH1 de anticuerpo y el dominio constante de cadena ligera de anticuerpo están unidos por uno o más enlaces disulfuro.

188. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 175, y 182 a 184, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un dominio V_{HH} unido a un dominio CH1 de anticuerpo, y en donde el dominio CH1 de anticuerpo está unido a un dominio constante de cadena ligera de anticuerpo por uno o más enlaces disulfuro.

189. El método de la reivindicación 185 o 186, en donde el dominio CH1 comprende las sustituciones F174C y C233S, y el dominio constante de cadena ligera comprende las sustituciones S176C y C214S, numeración según Kabat.

190. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 174, en donde el grupo de direccionamiento a células inmunes comprende un Fab que comprende:

(a) un fragmento de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y un fragmento de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 o 3;

(b) un fragmento de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 y un fragmento de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

191. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 190, en donde no más del 5 % de las células no inmunes son transfectadas por la LNP.

192. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 191, en donde la semivida del ácido nucleico administrado por la LNP o un polipéptido codificado por el ácido nucleico administrado por la LNP es al menos un 10 % más larga que la semivida del ácido nucleico administrado por una LNP de referencia o un polipéptido codificado por el ácido nucleico administrado por la LNP de referencia.

193. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 192, en donde al menos el 10 % de las células inmunes son transfectadas por la LNP.

194. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 138 a 193, en donde el nivel de expresión del ácido nucleico administrado por la LNP es al menos un 10 % mayor que el nivel de expresión del ácido nucleico administrado por una LNP de referencia.