

REIVINDICACIONES

1. Un producto de terapia celular CAR-NK que comprende células NK modificadas genéticamente para expresar un CAR CD19 y una IL-15 formuladas en un medio de criopreservación que comprende PLASMA-LYTE A, trehalosa, CS10 y albúmina sérica humana (HSA).
2. El producto de terapia celular de la Reivindicación 1, en donde el CAR CD19 comprende un dominio de unión anti-CD19 que comprende una región variable de cadena pesada que tiene al menos un 95% de identidad con SEQ ID NO: 2 y una región variable de cadena ligera que tiene al menos un 95% de identidad con SEQ ID NO: 1.
3. El producto de terapia celular de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el CAR CD19 comprende una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 2 y/o una región variable de cadena ligera que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 1; en donde el dominio transmembrana se selecciona del grupo que consiste en la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 épsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 y CD154; y en donde el dominio de señalización intracelular se selecciona del grupo que consiste en FcR gamma, FcR beta, CD3 gamma, CD3 delta, CD3-zeta, CD3 épsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b y CD66d.
4. El producto de terapia celular de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el CAR CD-19 comprende un dominio transmembrana CD28 que tiene al menos un 95% de identidad con SEQ ID NO: 3, y en donde el CAR CD19 comprende un dominio de señalización CD3z que tiene al menos un 95% de identidad con SEQ ID NO: 4.
5. El producto de terapia celular de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el producto de terapia celular comprende además un interruptor suicida, en el que el interruptor suicida es iCaspasa9; en donde las células NK se derivan de sangre de cordón umbilical, sangre periférica, células T o células iPS; en donde el medio de crioconservación comprende 25% v/v a 50% v/v de PLASMA-LYTE A; en donde la trehalosa está a una concentración de entre alrededor de 10mM - 100 mM; en el que la HSA está en una concentración de entre alrededor de 1,25% v/v a 25% v/v; o en el que el medio de crioconservación comprende entre alrededor de 40% v/v a 60% v/v de CS10.

6. El producto de terapia celular de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un crioprotector, en donde el crioprotector es DMSO.
7. Una composición que comprende el producto de terapia celular de cualquiera de las reivindicaciones precedentes.
8. Un agente terapéutico contra el cáncer que consiste en un producto de terapia celular que comprende una población de células CAR-NK que comprende células NK modificadas genéticamente para expresar un CAR CD-19 y una IL-15 formuladas en un medio de crioconservación que comprende PLASMA-LYTE A, trehalosa, CS10 y HSA, en el que el CAR CD19 comprende un dominio de unión anti-CD19 que comprende una región variable de cadena pesada que tiene al menos un 95% de identidad con SEQ ID NO: 2 y una región variable de cadena ligera que tiene al menos un 95% de identidad con SEQ ID NO: 1.
9. Un método a gran escala de crioconservación de células inmunitarias, que comprende:
 - (a) proporcionar un recipiente que comprende una muestra que comprende células inmunitarias suspendidas en un medio de crioconservación, en el que el volumen de la muestra es al menos un 5 por ciento inferior al volumen de capacidad total del recipiente, y en el que el volumen de la muestra es al menos de 10 ml;
 - (b) enfriar el contenedor desde una temperatura superior a la temperatura de congelación de la muestra hasta una temperatura de alrededor de -80°C o inferior en un proceso de varias etapas a una velocidad controlada para minimizar el calor latente de fusión;
 - (c) almacenar las células en la fase de vapor de nitrógeno líquido, crioconservando así las células inmunitarias.
10. El método de la Reivindicación 9, en donde las células se almacenan durante 1 semana, 2 semanas, 1 mes, 6 meses, 1 año, 2 años, 5 años, 10 años, o más; y/o en el que la descongelación de las células crioconservadas comprende: (a) calentar un baño de agua a una temperatura comprendida entre 37°C y 90°C; (b) transferir un recipiente que comprende células crioconservadas al baño de agua precalentado; y (c) agitar el recipiente a una velocidad comprendida entre alrededor de 100 y alrededor de 250 RPM durante un periodo de tiempo adecuado, descongelando así las células; en el que el total de células

viables después de la descongelación está comprendido entre alrededor de 200 millones y alrededor de 800 millones de células.

11. El método de la reivindicación 10, en donde el método comprende cambiar la temperatura de una muestra que contiene células inmunitarias desde una primera temperatura superior a la temperatura de congelación de la muestra hasta una temperatura final menor o igual que -80°C , mediante el cual se crioconserva la muestra a la temperatura final, el método comprendiendo las siguientes etapas:

(a) colocar la muestra a una primera temperatura por encima de la temperatura de congelación de la muestra;

(b) reducir la primera temperatura hasta una segunda temperatura a una primera velocidad controlada, donde la segunda temperatura es de al menos 2°C menos que la primera temperatura;

(c) reducir la segunda temperatura hasta una tercera temperatura a una segunda velocidad controlada, donde la tercera temperatura es de al menos 40°C menos que la segunda temperatura;

(d) aumentar la tercera temperatura hasta una cuarta temperatura a una tercera velocidad controlada, donde la cuarta temperatura es de al menos 20°C más que la tercera temperatura;

(e) reducir la cuarta temperatura hasta una quinta temperatura a una cuarta velocidad controlada, donde la quinta temperatura es de al menos 10°C menos que la cuarta temperatura; y

(f) reducir la quinta temperatura hasta la temperatura final a una quinta velocidad controlada, donde la temperatura final es menor o igual que -80°C .

12. El método de la reivindicación 11, en donde el proceso de varias etapas comprende enfriar las células a una velocidad controlada de entre $0,75^{\circ}\text{C}$ por minuto y 30°C por minuto hasta una temperatura final de -80°C o menos, mediante lo cual se crioconservan las células.

13. Un producto de terapia celular que comprende una población de células CAR-NK que comprende células NK modificadas genéticamente para expresar un CAR del antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA) y una IL-15 formuladas en un medio de crioconservación que comprende PLASMA-LYTE A, trehalosa, CS10 y HSA.

14. Un agente terapéutico contra el cáncer que comprende el producto de terapia celular de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y 13, o la composición de la reivindicación 7.

15. Un medio de criopreservación que comprende un crioprotector, una albúmina, un disacárido y una solución cristaloide no pirogénica e isotónica; tal como un medio que comprende: PLASMA-LYTE A, albúmina de suero humano (HSA), trehalosa y un crioprotector.