



BANDEJA DE ENTRADA > NC2017/0011344 - Patente PCT - Discutir el asunto

[Salir](#)

Información

[NC2017/0011344](#)

Patente PCT

PRODUCCIÓN DE
VECTORES
ADENO-
ASOCIADOS DE
GRAN TAMAÑORequerimiento
de Examen de
Fondo

Discusión

Título	Examen de Fondo Patente solicitado
Fecha de creación	22 ago 2019
Estado	Cerrado

Mensajes

patentescastellanosyco - 22 ago 2019

El Examen de Fondo de la Patente es solicitado

Cra 13 No. 27-00 pisos 1, 3, 4, 5, 6, 7 y 10 PBX: (571)5870000 . Call center: (571)5920400 Línea gratuita nacional 01800-910165

www.sic.gov.co . e-mail: contactenos@sic.gov.co . Bogotá D.C. - Colombia.Política de privacidad | Política editorial | Créditos | Webmaster: contactenos@sic.gov.co ::: Todos los derechos reservados 2008 - 2019**Cerrar**

Señor

Director de la Dirección de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. **NC2017/0011344**

Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para:

“PRODUCCIÓN DE VECTORES ADENO-ASOCIADOS DE GRAN TAMAÑO”

Solicitantes: **GENZYME CORPORATION**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. **2848** del 21 de mayo de 2019 atentamente me permito dar respuesta al mismo de la siguiente

1. Modificación a las Reivindicaciones

De acuerdo con lo establecido en el Artículo 34 de la Decisión 486 y en vista de las observaciones realizadas por el examinador, se presenta en esta oportunidad un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 51 reivindicaciones, en donde se han modificado las reivindicaciones 1-2, 7, 17, 20, 28-29, 31, 34, 42-43 y 46, y se han cancelado las reivindicaciones 3-4, 30 y 55. En vista de ellos, se han reenumerado las reivindicaciones y sus dependencias.

El soporte para las modificaciones se puede encontrar en las antiguas reivindicaciones 3, 4, 30 y 31 y en los párrafos [0007], [0020], [0024], [0051], [0123] y [0127] de la descripción.

Es de resaltar que no se agrega materia nueva.

2. Claridad y concisión del pliego reivindicatorio

Tal como se ha indicado anteriormente, el pliego reivindicatorio ha sido modificado. Adicionalmente, se solicita tener en cuenta los siguientes comentarios relacionados con las objeciones del Examinador.

- 2.1.** El Examinador ha rechazado la reivindicación 1 porque no es clara al no definir las condiciones en las que se cultiva la línea celular productora de AAV, la secuencia y el tamaño máximo del genoma de rAAV, la forma en

que se proporcionan las funciones auxiliares de AAV y el método de recolección las partículas de rAAV.

- A fin de superar esta objeción, la nueva reivindicación 1 recita lo siguiente:

1. Un método para producir una partícula de virus adenoasociado (AAV) que comprende un genoma de AAV recombinante (rAAV) de gran tamaño, comprendiendo el método

a) cultivar una línea celular productora de AAV en condiciones para generar partículas rAAV, en el que la línea celular productora de AAV comprende

i) ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, y

ii) un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb - 9,4kb;

b) proporcionar funciones auxiliares de AAV por adenovirus, HSV o baculovirus; y

c) recoger las partículas rAAV que comprenden genomas de rAAV de gran tamaño, en donde el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño, o el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV y el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño se mantienen de forma estable en la línea celular productora, se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora, o se mantienen de forma estable en la línea celular productora y se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora.

Los métodos para cultivar una línea celular productora y recolectar partículas de rAAV son claramente conocidos por un experto en el campo de la invención y, en consecuencia, estos pasos son claros. Además, la secuencia del genoma de rAAV no es una característica necesaria de la reivindicación.

2.2. El Examinador ha rechazado las reivindicaciones 1, 17, 28 y 42 porque supuestamente por no recitar un tamaño máximo del genoma.

- A fin de superar esta objeción, las reivindicaciones 1, 17, 28 y 42 se han modificado para recitar "en donde el genoma de AAV es 5.4 kb - 9.4 kb" o "en donde el genoma de rAAV es 6 kb - 9.4 kb"

2.3. El Examinador ha rechazado la reivindicación 4 porque corresponde a los resultados a alcanzar.

- A este respecto se solicita tener en cuenta que el lenguaje de la reivindicación 4 se ha incorporado a la reivindicación 1. Por lo tanto, las limitaciones de la reivindicación 4 no son resultados a alcanzar sino características técnicas del ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV o el ácido nucleico que codifica el AAV rep y cap genes. Un experto en la materia reconocería fácilmente si el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV o el ácido nucleico que codifica los genes rep y cap de AAV se mantienen de manera estable en la línea celular productora o se integran de manera estable en el genoma de la línea celular productora. En

consecuencia, la reivindicación 1, que recita las limitaciones de la reivindicación 4 anterior, es clara.

2.4. El Examinador ha objetado las reivindicaciones 7, 20, 34 y 36 porque recitan el término "producto transgénico terapéutico".

- A fin de superar la objeción, las reivindicaciones 7, 20 y 34 se han modificado para recitar "un péptido terapéutico o ácido nucleico terapéutico". Además, se aclara que antigua reivindicación 36 no recita el término "producto transgénico terapéutico".

2.5. El Examinador ha objetado la reivindicación 17 porque recita er un resultado a alcanzar y no proporcionar un valor límite para el tamaño del genoma o la secuencia comprendida en él.

- La reivindicación 17 se ha modificado para recitar "Una composición que comprende partículas de rAAV en la que al menos el 45% de las partículas de rAAV encapsulan un genoma de rAAV de gran tamaño que es de 5,4 kb a 9,4 kb". Estas limitaciones no son resultados a alcanzar, sino características técnicas de la composición en términos de cantidad de partículas en la composición. Un experto en la materia podría reconocer si un genoma está encapsidado y determinar el porcentaje de partículas que encapsulan un genoma rAAV de gran tamaño. Además, argumenta que la secuencia del genoma de rAAV no es una característica necesaria para la claridad de la afirmación.

2.6. El Examinador ha rechazado las reivindicaciones 17, 28, 42 y 55 por tener el mismo alcance.

- La reivindicación 55 no se incluye en esta oportunidad. Adicionalmente, a pesar de que los diferentes productos reivindicados en las reivindicaciones 17, 28 y 42 comprenden genomas de gran tamaño, estas reivindicaciones corresponden en realidad a diferentes productos como reconocería un experto en la materia.

2.7. El Examinador ha rechazado la reivindicación 28 a porque no define el tamaño del genoma contenido en la línea celular y no define la línea celular.

- La reivindicación 28 (nueva reivindicación 26) se ha modificado para recitar:

26. Una línea celular para producir una partícula de virus adenoasociado (AAV) que comprende un genoma de AAV recombinante de gran tamaño, comprendiendo la línea celular

a) ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, y

b) un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb – 9,4kb.

en donde el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño, o el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV y el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño se mantienen de forma estable

en la línea celular productora, se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora, o se mantienen de forma estable en la línea celular productora y se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora;

y en donde la línea celular productora se deriva de células de primates, células HeLa, células 293, células A549 o células Perc.

2.8. El Examinador ha objetado las reivindicaciones 54 y 55 por tener el mismo alcance.

- Tal como se ha indicado previamente, la antigua reivindicación 55 no se incluye en esta oportunidad.

3. Determinación del Estado de la Técnica

El examinador ha determinado el arte previo con base en la fecha de la fecha de la presentación de la solicitud de la cual se invoca prioridad, siendo esta 8 de abril de 2015. Se han citado los siguientes documentos:

Nº	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	Yuan et al., Human Gene Therapy	“A Versatile Adeno- Associated Virus Vector Producer Cell Line Method for Scalable Vector Production of Different Serotypes”	01/05/2011
D2	WO 2015/038625	“Adeno-associated virus Factor VIII vectors ”	19/03/2015

4. Novedad

El Examinador ha objetado la novedad de las reivindicaciones 1-16 y 28-53 en vista de D1 (Yuan et al., 2011, Human Gene Therapy 22: 613-624). De igual manera las reivindicaciones 17-27 se han objetado por carecer de novedad sobre D2 (WO 2015038625).

Tal como se ha indicado previamente, las antiguas reivindicaciones 1, 17, 28 y 42 (reivindicaciones independientes) han sido modificadas para recitar que el genoma de rAAV es 5.4 kb - 9.4 kb o 6 kb - 9.4 kb.

Es de resaltar que los documentos D1 y D2 no divulgan información alguna con respecto a las partículas de AAV que tienen un tamaño de genoma de 5.4 kb - 9.4 kb o 6 kb - 9.4 kb. En consecuencia, las reivindicaciones 1, 17, 28 y 42, (nuevas reivindicaciones 1, 15, 26 y 39) y las reivindicaciones que dependen de ellas son nuevas sobre D1 y D2.

Por lo tanto, es posible afirmar que la presente solicitud cumple con el requerimiento establecido en el Artículo 16 de la Decisión 486.

5. Nivel inventivo

El Examinador ha objetado que las reivindicaciones 54 y 55 carecen de nivel inventivo en vista de D2.

A este respecto se solicita tener en cuenta que la reivindicación 39 (antigua reivindicación 42), de la cual depende la renueva reivindicación 51 (antigua reivindicación 54), se ha modificado para recitar que el genoma de rAAV es de 6 kb a 9,4 kb y se ha cancelado la reivindicación 55.

El documento D2 no menciona las partículas de AAV que tienen un tamaño de genoma de 6 kb a 9,4 kb, tal como se menciona actualmente en la reivindicación 39, de la que depende la reivindicación 51. Además, D2 enseña que *"los vectores AAV sobredimensionados se truncan aleatoriamente en los extremos 5'", véase el párrafo [0094] de D2. Del mismo modo, Wu et al. (Wu et al., Molecular Therapy 2010, 18 (1): 80-86, adjunto al presente) enseñaron que "los genomas de vectores de AAV empaquetados nunca excedieron los 5.2 kb de longitud, independientemente del tamaño del vector codificado por el plásmido o el tipo de cápsida"* y que cuando se empaquetaron vectores que superaban los 5 kb, los genomas resultantes tenían una longitud heterogénea y se truncaban en el extremo 5'. Ver Wu et al. Resumen.

En consecuencia, un experto en la materia en el momento de la presentación efectiva de los datos de la presente solicitud no habría tenido una expectativa razonable de éxito al producir una partícula de AAV con un genoma de gran tamaño de 6 kb a 9,4 kb.

En consecuencia, la reivindicación 39 es inventiva en vista de D2, cumpliendo así con lo establecido en el Artículo 18 de la Decisión 486.

6. Conclusión

Teniendo en cuenta las modificaciones introducidas en esta oportunidad y los argumentos que se presentan, es posible establecer que las reivindicaciones del nuevo pliego reivindicatorio cumplen con los requerimientos de la Decisión 486.

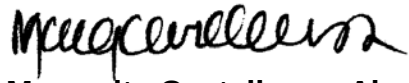
7. Solicitud nuevo examen de patentabilidad

Considerando que aún se está dentro del término legal para la solicitud de un nuevo examen de patentabilidad, se ha procedido a solicitar el mismo, tal como se evidencia en el comprobante adjunto.

8. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por cincuenta y ún (51) reivindicaciones.
- Comprobante de solicitud nuevo examen de pantentabilidad.

Señor Director,



Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. **39.779.654** de Bogotá

T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.

Calle 117 No. 5A-35 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.
MCA/lt
P4762
RESPUESTA AO 2848

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una partícula de virus adenoasociado (AAV) que comprende un genoma de AAV recombinante (rAAV) de gran tamaño, comprendiendo el método

a) cultivar una línea celular productora de AAV en condiciones para generar partículas rAAV, en el que la línea celular productora de AAV comprende

i) ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, y

ii) un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb - 9,4kb;

b) proporcionar funciones auxiliares de AAV por adenovirus, HSV o baculovirus; y

c) recoger las partículas rAAV que comprenden genomas de rAAV de gran tamaño, en donde el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño, o el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV y el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño se mantienen de forma estable en la línea celular productora, se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora, o se mantienen de forma estable en la línea celular productora y se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora.

2. El método de la reivindicación 1, en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb - 6,7 kb.

3. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende un transgen heterólogo y una o más de:

(i) una o dos repeticiones terminales invertidas (ITRs) de AAV;

(ii) un intrón; o

(iii) una señal de poliadenilación.

4. El método de la reivindicación 3 en donde la una o dos ITRs son ITRs de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV DJ, AAV de cabra, AAV bovino, o AAV de ratón.

5. El método de la reivindicación 3 o 4, en el que el transgén heterólogo codifica un péptido terapéutico o ácido nucleico terapéutico.

6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en el que el transgén heterólogo codifica el Factor VIII, la distrofina, la disferlina o el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en el que el transgén heterólogo es un transgén humano, está unido operativamente a un promotor, o es un transgén humano y está unido operativamente a un promotor.

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la partícula rAAV comprende una cápside de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV2/2-7m8, AAV DJ, AAV2 N587A, AAV2 E548A, AAV2 N708A, AAV V708K, un AAV de cabra, AAV1/AAV2 quimérica, AAV bovina o cápside de AAV de ratón rAAV2/HBoV1.

9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-8, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan del mismo serotipo de AAV.

10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-9, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de AAV2.

11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-8, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de diferentes serotipos de AAV.

12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-8 o la reivindicación 11, en donde la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.

13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la línea celular productora se deriva de células de primate, células HeLa, células 293, células A549 o células Perc.6.

14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, que comprende además purificación de las partículas rAAV.

15. Una composición que comprende partículas rAAV en la que al menos 45 % de la partícula rAAV encapsida un genoma de rAAV es 5,4 kb - 9,4kb.

16. La composición de la reivindicación 15, en la que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende un transgén heterólogo y uno o más de:

- (i) una o dos repeticiones terminales invertidas (ITRs) de AAV;
- (ii) un intrón;
- (iii) comprende una señal de poliadenilación.

17. La composición de la reivindicación 18, en la que las ITRs son ITRs de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV DJ, AAV de cabra, AAV bovino o AAV de ratón.

18. La composición de la reivindicación 16 o 17, en la que el transgén heterólogo codifica un péptido terapéutico o ácido nucleico terapéutico.

19. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 16-18, en la que el transgén heterólogo codifica el Factor VIII, la distrofina, la disferlina o el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

20. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 16-18, en la que el transgén heterólogo es un transgén humano, está unido operativamente a un promotor, o es un transgén humano y está unido operativamente a un promotor.

21. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 17-22, en la que la partícula rAAV comprende una cápside de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV2/2-7m8, AAV DJ, AAV2 N587A, AAV2 E548A, AAV2 N708A, AAV V708K, un AAV de cabra, AAV1/AAV2 quimérico, AAV bovino o cápside de AAV de ratón rAAV2/HBoV1.

22. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 15-21, en la que la ITR y la cápside de la partícula de rAAV se derivan del mismo serotipo de AAV.

23. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 15-22, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de AAV2.

24. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 15-21, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de diferentes serotipos de AAV.

25. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 15-21 o la reivindicación 24, en la que la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.

26. Una línea celular para producir una partícula de virus adenoasociado (AAV) que comprende un genoma de AAV recombinante de gran tamaño, comprendiendo la línea celular

- a) ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, y
- b) un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb – 9,4kb.

en donde el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño, o el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV y el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño se mantienen de forma estable en la línea celular productora, se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora, o se mantienen de forma estable en la línea celular productora y se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora;

y en donde la línea celular productora se deriva de células de primates, células HeLa, células 293, células A549 o células Perc.6.

27. La línea celular de la reivindicación 26, en la que el genoma de rAAV es 5,4 kb – 6,7kb.

28. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 26-27, en la que la línea celular está adaptada para el crecimiento en suspensión.

29. La línea celular de la reivindicación 26-28, en la que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende un transgen heterólogo y una o más de:

- (i) una o dos repeticiones terminales invertidas (ITRs) de AAV;
- (ii) un intrón; o
- (iii) una señal de poliadenilación.

30. La línea celular de la reivindicación 29, en la que las ITRs son ITRs de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV DJ, AAV de cabra, AAV bovino, o AAV de ratón.

31. La línea celular de las reivindicaciones 29 o 30, en la que el transgén heterólogo codifica un péptido terapéutico o ácido nucleico terapéutico.

32. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-31, en la que el transgén heterólogo codifica el Factor VIII, la distrofina, la disferlina o el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

33. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-32, en la que el transgén heterólogo es un transgén humano, está unido operativamente a un promotor, o es un transgén humano y está unido operativamente a un promotor.

34. La línea celular de la reivindicación 26-33, en la que la partícula rAAV comprende una cápside de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV2/2-7m8, AAV DJ, AAV2 N587A, AAV2 E548A, AAV2 N708A, AAV V708K, un AAV de cabra, AAV1/AAV2 quimérico, AAV bovino o cápside de AAV de ratón rAAV2/HBoV1.

35. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-34, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan del mismo serotipo de AAV.

36. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-35, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de AAV2.

37. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-34, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de diferentes serotipos de AAV.

38. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-34 o la reivindicación 40, en donde la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.

39. Una partícula de virus adenoasociado (AAV) que comprende un genoma de rAAV de gran tamaño encapsidado por una cápside de AAV, en la que el genoma de rAAV es 6 kb – 9,4 kb.

40. La partícula AAV de la reivindicación 39, en el que el genoma de rAAV es 6 kb – 6,7 kb.

41. La partícula AAV de las reivindicaciones 39 o 40, en la que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende un transgen heterólogo y una o más de:

- (i) una o dos repeticiones terminales invertidas (ITR) de AAV;
- (ii) un intrón; o
- (iii) una señal de poliadenilación.

42. La partícula AAV de la reivindicación 41, en la que la una o dos ITRs son ITRs de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV DJ, AAV de cabra, AAV bovino, o AAV de ratón.

43. La partícula AAV de las reivindicaciones 41 o 42, en la que el transgén heterólogo codifica un péptido terapéutico transgénico o ácido nucleico terapéutico.

44. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-43, en la que el transgén heterólogo codifica el Factor VIII, la distrofina, la disferlina o el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

45. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-44, en el que el transgén heterólogo es un transgén humano, está unido operativamente a un promotor, o es un transgén humano y está unido operativamente a un promotor.

46. La partícula AAV de la reivindicación 39-45, en la que la partícula rAAV comprende una cápside de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV2/2-7m8, AAV DJ, AAV2 N587A, AAV2 E548A, AAV2 N708A, AAV V708K, un AAV de cabra, AAV1/AAV2 quimérico, AAV bovino o cápside de AAV de ratón rAAV2/HBoV1.

47. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-46, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan del mismo serotipo de AAV.

48. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-47, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de AAV2.

49. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-46, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de diferentes serotipos de AAV.

50. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-46 o la reivindicación 52, en la que la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.

51. La partícula de AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 39-46, en la que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende de 5' a 3'

(i) una ITR de AAV2, un promotor de mTTR, un intrón sintético, un transgén que codifica FVIII humano, una secuencia de poliadenilación sintética, y una ITR de AAV2;

(ii) una ITR de AAV2, un promotor de mTTR, un intrón sintético, un transgén que codifica FVIII humano que comprende una delección del dominio B, una secuencia de poliadenilación sintética, y una ITR de AAV2;

(iii) una ITR de AAV2, un promotor de mTTR, un intrón sintético, un transgén que codifica FVIII humano, una secuencia de poliadenilación sintética de hormona del crecimiento bovina, y una ITR de AAV2; o

(iv) una ITR de AAV2, un promotor de mTTR, un intrón sintético, un transgén que codifica FVIII humano que comprende una delección del dominio B, una secuencia de poliadenilación sintética de hormona del crecimiento bovina, y una ITR de AAV2.

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una partícula de virus adenoasociado (AAV) que comprende un genoma de AAV recombinante (rAAV) de gran tamaño, comprendiendo el método
 - a) cultivar una línea celular productora de AAV en condiciones para generar partículas rAAV, en el que la línea celular productora de AAV comprende
 - i) ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, y
 - ii) un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb - 9,4kb;
 - b) proporcionar funciones auxiliares de AAV por adenovirus, HSV o baculovirus; y
 - c) recoger las partículas rAAV que comprenden genomas de rAAV de gran tamaño, en donde el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño, o el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV y el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño se mantienen de forma estable en la línea celular productora, se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora, o se mantienen de forma estable en la línea celular productora y se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora..
2. El método de la reivindicación 1, en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb - 6,7 kb.
3. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende un transgen heterólogo y una o más de:
 - (i) una o dos repeticiones terminales invertidas (ITRs) de AAV;
 - (ii) un intrón; o
 - (iii) una señal de poliadenilación.
4. El método de la reivindicación 3 en donde la una o dos ITRs son ITRs de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV DJ, AAV de cabra, AAV bovino, o AAV de ratón.
5. El método de la reivindicación 3 o 4, en el que el transgén heterólogo codifica un péptido terapéutico o ácido nucleico terapéutico.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en el que el transgén heterólogo codifica el Factor VIII, la distrofina, la disferlina o el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).
7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en el que el transgén heterólogo es un transgén humano, está unido operativamente a un promotor, o es un transgén humano y está unido operativamente a un promotor.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la partícula rAAV comprende una cápside de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV2/2-7m8, AAV

DJ, AAV2 N587A, AAV2 E548A, AAV2 N708A, AAV V708K, un AAV de cabra, AAV1/AAV2 quimérica, AAV bovina o cápside de AAV de ratón rAAV2/HBoV1.

9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-8, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan del mismo serotipo de AAV.

10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-9, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de AAV2.

11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-8, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de diferentes serotipos de AAV.

12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-8 o la reivindicación 11, en donde la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.

13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la línea celular productora se deriva de células de primate, células HeLa, células 293, células A549 o células Perc.6.

14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, que comprende además purificación de las partículas rAAV.

15. Una composición que comprende partículas rAAV en la que al menos 45 % de la partícula rAAV encapsida un genoma de rAAV es 5,4 kb - 9,4kb.

16. La composición de la reivindicación 15, en la que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende un transgén heterólogo y uno o más de:

- (i) una o dos repeticiones terminales invertidas (ITRs) de AAV;
- (ii) un intrón;
- (iii) comprende una señal de poliadenilación.

17. La composición de la reivindicación 18, en la que las ITRs son ITRs de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV DJ, AAV de cabra, AAV bovino o AAV de ratón.

18. La composición de la reivindicación 16 o 17, en la que el transgén heterólogo codifica un péptido terapéutico o ácido nucleico terapéutico.

19. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 16-18, en la que el transgén heterólogo codifica el Factor VIII, la distrofina, la disferlina o el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

20. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 16-18, en la que el transgén heterólogo es un transgén humano, está unido operativamente a un promotor, o es un

transgén humano y está unido operativamente a un promotor.

21. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 17-22, en la que la partícula rAAV comprende una cápside de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV2/2-7m8, AAV DJ, AAV2 N587A, AAV2 E548A, AAV2 N708A, AAV V708K, un AAV de cabra, AAV1/AAV2 quimérico, AAV bovino o cápside de AAV de ratón rAAV2/HBoV1.

22. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 15-21, en la que la ITR y la cápside de la partícula de rAAV se derivan del mismo serotipo de AAV.

23. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 15-22, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de AAV2.

24. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 15-21, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de diferentes serotipos de AAV.

25. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 15-21 o la reivindicación 24, en la que la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.

26. Una línea celular para producir una partícula de virus adenoasociado (AAV) que comprende un genoma de AAV recombinante de gran tamaño, comprendiendo la línea celular

- a) ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, y
- b) un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb – 9,4kb.

en donde el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV, el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño, o el ácido nucleico que codifica genes rep y cap de AAV y el ácido nucleico que codifica el genoma de rAAV de gran tamaño se mantienen de forma estable en la línea celular productora, se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora, o se mantienen de forma estable en la línea celular productora y se integran de forma estable en el genoma de la línea celular productora;

y en donde la línea celular productora se deriva de células de primates, células HeLa, células 293, células A549 o células Perc.6.

27. La línea celular de la reivindicación 26, en la que el genoma de rAAV es 5,4 kb – 6,7kb.

28. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 26-27, en la que la línea celular está adaptada para el crecimiento en suspensión.

29. La línea celular de la reivindicación 26-28, en la que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende un transgén heterólogo y una o más de:

- (i) una o dos repeticiones terminales invertidas (ITRs) de AAV;
- (ii) un intrón; o

(iii) una señal de poliadenilación.

30. La línea celular de la reivindicación 29, en la que las ITRs son ITRs de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV DJ, AAV de cabra, AAV bovino, o AAV de ratón.

31. La línea celular de las reivindicaciones 29 o 30, en la que el transgén heterólogo codifica un péptido terapéutico o ácido nucleico terapéutico.

32. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-31, en la que el transgén heterólogo codifica el Factor VIII, la distrofina, la disferlina o el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

33. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-32, en la que el transgén heterólogo es un transgén humano, está unido operativamente a un promotor, o es un transgén humano y está unido operativamente a un promotor.

34. La línea celular de la reivindicación 26-33, en la que la partícula rAAV comprende una cápside de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV2/2-7m8, AAV DJ, AAV2 N587A, AAV2 E548A, AAV2 N708A, AAV V708K, un AAV de cabra, AAV1/AAV2 quimérico, AAV bovino o cápside de AAV de ratón rAAV2/HBoV1.

35. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-34, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan del mismo serotipo de AAV.

36. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-35, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de AAV2.

37. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-34, en donde la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de diferentes serotipos de AAV.

38. La línea celular de una cualquiera de las reivindicaciones 29-34 o la reivindicación 40, en donde la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.

39. Una partícula de virus adenoasociado (AAV) que comprende un genoma de rAAV de gran tamaño encapsidado por una cápside de AAV, en la que el genoma de rAAV es 6 kb – 9,4 kb.

40. La partícula AAV de la reivindicación 39, en el que el genoma de rAAV es 6 kb – 6,7 kb.

41. La partícula AAV de las reivindicaciones 39 o 40, en la que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende un transgen heterólogo y una o más de:

- (i) una o dos repeticiones terminales invertidas (ITR) de AAV;
- (ii) un intrón; o
- (iii) una señal de poliadenilación.

42. La partícula AAV de la reivindicación 41, en la que la una o dos ITRs son ITRs de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV DJ, AAV de cabra, AAV bovino, o AAV de ratón.

43. La partícula AAV de las reivindicaciones 41 o 42, en la que el transgén heterólogo codifica un péptido terapéutico transgénico o ácido nucleico terapéutico.

44. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-43, en la que el transgén heterólogo codifica el Factor VIII, la distrofina, la disferlina o el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

45. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-44, en la que el transgén heterólogo es un transgén humano, está unido operativamente a un promotor, o es un transgén humano y está unido operativamente a un promotor.

46. La partícula AAV de la reivindicación 39-45, en la que la partícula rAAV comprende una cápside de serotipo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAVrh8R, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11, AAV12, AAV2R471A, AAV2/2-7m8, AAV DJ, AAV2 N587A, AAV2 E548A, AAV2 N708A, AAV V708K, un AAV de cabra, AAV1/AAV2 quimérico, AAV bovino o cápside de AAV de ratón rAAV2/HBoV1.

47. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-46, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan del mismo serotipo de AAV.

48. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-47, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de AAV2.

49. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-46, en la que la una o dos ITRs y la cápside de la partícula de rAAV se derivan de diferentes serotipos de AAV.

50. La partícula AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 41-46 o la reivindicación 52, en la que la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.

51. La partícula de AAV de una cualquiera de las reivindicaciones 39-46, en la que el genoma de rAAV de gran tamaño comprende de 5' a 3'

(i) una ITR de AAV2, un promotor de mTTR, un intrón sintético, un transgén que codifica FVIII humano, una secuencia de poliadenilación sintética, y una ITR de AAV2;

(ii) una ITR de AAV2, un promotor de mTTR, un intrón sintético, un transgén que codifica FVIII humano que comprende una delección del dominio B, una secuencia de poliadenilación

sintética, y una ITR de AAV2;

(iii) una ITR de AAV2, un promotor de mTTR, un intrón sintético, un transgén que codifica FVIII humano, una secuencia de poliadenilación sintética de hormona del crecimiento bovina, y una ITR de AAV2; o

(iv) una ITR de AAV2, un promotor de mTTR, un intrón sintético, un transgén que codifica FVIII humano que comprende una delección del dominio B, una secuencia de poliadenilación sintética de hormona del crecimiento bovina, y una ITR de AAV2.