

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”**

Solicitante: **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. 890** notificado en enero 22 de 2020, me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

#### **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 38 reivindicaciones y se pone de presente que la materia recitada se encuentra debidamente soportada en la descripción tal como fue originalmente presentada. En particular, las reivindicaciones 1, 2, 4, 15, 17, 21, 26, 27 y 38 han sido modificadas, y las reivindicaciones 39 a 55 han sido eliminadas. Específicamente el soporte para las modificaciones a las reivindicaciones 1, 2, 15, 26 y 27 se puede encontrar en la página 2, línea 14 a página 3, línea 9; página 8, líneas 11 a 32; y página 10, líneas 1 a 17. Por su parte, las reivindicaciones 4, 17, 21 y 38 han sido modificadas para corregir sus dependencias. Por último, no se agregó materia nueva al pliego reivindicatorio.

#### **2. Claridad de las reivindicaciones**

En primer lugar, con respecto a la objeción elevada hacia las reivindicaciones 1, 15, 26 y 39 porque no tienen sustento en la descripción ya que el genoma de rAAV es de hasta 9,4 kb y solo hay evidencia técnica para un tamaño máximo de 6,7 kb, ponemos de presente nuestro desacuerdo teniendo en cuenta que limitar las reivindicaciones únicamente a los ejemplos es restrictivo. Así las cosas, limitar las reivindicaciones solamente a los ejemplos conduciría a una limitación indebida del alcance de la

**CALLE 117 No. 5A – 35 / P.O. BOX 6349  
TELÉFONO (571) 756 0770 FAX (571) 755 0158  
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA  
castellanos@castellanosyco.co / www.castellanosyco.co**

invención, ya que una persona del oficio normalmente versada en la materia es capaz de extrapolar los ejemplos a todas las modalidades preferidas de la invención. Sin embargo, con el fin de acelerar el proceso, la reivindicación 1 ha sido modificada para recitar “*en el que el genoma de rAAV es 5,4kb – 6,7kb*”, las reivindicaciones 14 y 26 han sido modificadas para limitar el tamaño del genoma reivindicado de 5,4 kb – 6,7 kb, y la reivindicación 39 así como sus dependientes han sido eliminadas.

La evidencia técnica para las partículas rAAV en el que el genoma de rAAV es 5,4 kb – 6,7 kb se puede encontrar en el ejemplo 4, página 79, línea 26 a página 80, línea 28, y ejemplo 6, página 82, línea 6 a página 83, línea 11 de la descripción tal como fue presentada originalmente. Por lo tanto, la objeción a este respecto se debe tener por superada.

Por su parte, con respecto a la objeción elevada hacia las reivindicaciones 4, 17, 38 y 50 por no ser claras ya que dependen de las reivindicaciones 5, 18, 40 y 52, respectivamente, lo cual carece de coherencia, mientras la reivindicación 21 depende de la misma reivindicación 21 y una reivindicación subsecuente, amablemente señalamos que han sido modificadas con el fin de corregir las dependencias de dichas reivindicaciones. Por lo tanto, la objeción a este respecto se debe tener por superada.

Finalmente, con relación a la objeción realizada a la reivindicación 15 porque la redacción de esta es incorrecta, respetuosamente señalamos nuestro descuerdo ya que dicha reivindicación es clara para una persona del oficio normalmente versada en la materia. Sin embargo, con el fin de acelerar el proceso, dicha reivindicación se ha modificado con el fin de indicar de una manera más clara las características técnicas de la siguiente manera: “*Una composición que comprende partículas de rAAV en la que al menos 45% de la particular AAV encapsida un genoma de rAAV **de gran tamaño, en el que el tamaño del genoma de rAAV es de 5,4 kb – 6,7 kb***”. Por lo tanto, la reivindicación 15 es clara y la objeción a este respecto se debe tener por superada.

Teniendo en cuenta las anteriores aclaraciones, es claro que la presente invención cumple con los requerimientos del artículo 30 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

### **3. Novedad**

La materia de invención recitada en la presente solicitud de patente, fue objetada por falta de novedad frente a dos documentos del estado de la técnica de la siguiente manera:

- Reivindicaciones 39 a 50: Novedad frente al documento WO 2015/038625 (D2).
- Reivindicaciones 1 a 38: Novedad frente al documento Lu *et al.*, Human Gene Therapy (D3).

Teniendo en cuenta el nuevo pliego reivindicatorio y los argumentos que se ponen de presente a continuación, es claro que la materia objeto de protección es novedosa frente a los documentos citados. Veamos:

Con respecto a la reivindicación 1

En primer lugar, considerando la objeción realizada hacia la reivindicación 1 por falta de novedad frente al documento D3, respetuosamente manifestamos nuestro desacuerdo. Sin embargo, con el propósito de acelerar el proceso y sin aceptar la objeción, la reivindicación 1 ha sido modificada para recitar:

*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 5,4kb - 6,7kb;*

*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.*

Teniendo en cuenta la modificación realiza, señalamos a su Despacho que el documento D3 no enseña **"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"**, como se requiere en la reivindicación 1.

El documento D3 describe la preparación de partículas de rAAV mediante la transfección de plásmidos en una línea celular. Como se señala en los Materiales y Métodos de D3, **"El vector recombinante de AAV con el gen del factor VIII se produjo mediante el método de cotransfección con triple plásmido"** (ver D3, página 649, segundo párrafo). En el método de triple transfección para producir rAAV, se transfectan tres plásmidos separados en una línea celular, que incluye (1) un plásmido que codifica los genes rep y cap de AAV, (2) un plásmido auxiliar derivado de adenovirus y (3) el vector de rAAV a ser empaquetado. Una persona experta en la técnica también reconocería que los

plásmidos permanecen como plásmidos una vez transfectados en una célula. Dichos plásmidos transfectados no se *"mantienen de manera estable en la línea celular productora, se integran de manera estable en el genoma de la línea celular productora, o se mantienen de manera estable en la línea celular productora y se integran de manera estable en el genoma de la línea celular productora"*, como se encuentra reclamado en las reivindicaciones actuales. En consecuencia, la reivindicación 1 y sus dependientes no son anticipadas por D3.

En contraste, la presente solicitud describe un método para producir partículas de rAAV utilizando una línea celular productora ("*PCL*" por sus siglas en inglés; ver, por ejemplo, página 56, líneas 6 a 25, y página 68, líneas 5 a 17 de la solicitud de patente tal como fue presentada). Como se describe en los Ejemplos 3 y 4, el tamaño y la integridad de los genomas encapsidados de las partículas de rAAV producidas a través de una PCL se compararon directamente con las partículas producidas por transfección triple. Sorprendentemente, los rAAV producidos por PCL exhibieron un empaquetado superior de vectores AAV de gran tamaño. En particular, los vectores rAAV producidos por PCL fueron más propensos a estar sobredimensionados (ver Figura 8D) y más propensos a poseer extremos encapsidados de 5' (ver Figuras 8C y 9C). Por lo tanto, el *"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"* reivindicado es novedoso e inventivo frente a los métodos de triple transfección, usados en D3.

Además, D3 no enseña *"en el que la línea celular productora de AAV comprende [...] un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el genoma de rAAV de gran tamaño es 5,4kb - 6,7kb"*, como se requiere en la reivindicación 1. Aunque D3 intentó generar vectores AAV con genomas de 5,75 kb, D3 descubrió que la *"secuencia de ADN en el virión parecía estar en el rango de 5 kb, muy por debajo del supuesto genoma del vector de 5,75 kb. Esto sugirió que hubo supresiones de secuencias de vectores durante el proceso de encapsidación"* (ver el párrafo que abarca las páginas 652 y 653 y la Figura 2). El documento D3 también afirma que *"la mayoría del ADN monocatenario empaquetado de pAAV-CB-FVIII fue de aproximadamente 5 kb. Se detectaron pocos ADNs de AAV en el rango de 5,75 kb. Estos resultados sugirieron que no todas las secuencias de vectores estaban completamente empaquetadas"* (ver página 652, primer párrafo completo).

Por lo tanto, D3 no enseña las características técnicas esenciales de la reivindicación 1. En consecuencia, la reivindicación 1 y sus dependientes son nuevas frente a D3.

#### Con respecto a la reivindicación 15

Por su lado, con respecto a la objeción por falta de novedad de la reivindicación 15 frente a D3, amablemente manifestamos nuestro desacuerdo. Sin embargo, con el propósito de acelerar el proceso y sin aceptar la objeción, la reivindicación 15 ha sido modificada para recitar:

*Una composición que comprende partículas rAAV en la que al menos 45% de la partícula rAAV encapsula un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el tamaño del genoma de rAAV es de 5,4 kb - 6,7kb.*

Teniendo en cuenta los cambios realizados en la reivindicación 15, es claro que el documento D3 no enseña *"Una composición que comprende partículas de rAAV en la que al menos el 45% de las partículas de rAAV encapsidan un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el tamaño del genoma de rAAV es de 5,4 kb a 6,7 kb"*. El examinador ha señalado que las páginas 649-650 de D3 revelan un vector AAV de tamaño de 5,7 kb. Sin embargo, como se describió anteriormente, D3 informó que *"la mayoría del ADN monocatenario empaquetado de pAAV-CB-FVIII era de aproximadamente 5 kb"* (ver página 652, primer párrafo completo y Figura 2D). Por lo tanto, mientras D3 intentó generar vectores AAV con genomas de 5,75 kb, D3 no enseña *"en donde al menos el 45% de las partículas de rAAV encapsidan un genoma de rAAV de gran tamaño, en el que el tamaño del genoma de rAAV es de 5,4 kb a 6,7 kb"*.

Por lo tanto, D3 no enseña las características técnicas esenciales de la reivindicación 15. En consecuencia, la reivindicación 15 y sus dependientes son nuevas frente a D3.

#### Con respecto a la reivindicación 26

Por otro lado, teniendo en cuenta la objeción por falta de novedad de la reivindicación 26 frente a D3, amablemente manifestamos nuestro desacuerdo. Sin embargo, con el propósito de acelerar el proceso y sin aceptar la objeción, la reivindicación 26 ha sido modificada para recitar:

*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 – 6,7kb, 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.*

Como se señaló anteriormente, D3 describe la producción de partículas de rAAV por transfección triple de plásmidos. Como se señala en los Materiales y Métodos de D3, *"El vector de AAV recombinante con el gen del factor VIII se produjo mediante el método de*

*cotransfección con triple plásmido*" (ver la página 649, segundo párrafo). Así las cosas, una persona experta en la técnica reconocería que la triple transfección de plásmidos no es lo mismo que *"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"*, tal como se encuentra en la actual reivindicación 26.

Además, como se describió anteriormente, D3 no enseña *"en donde el genoma de rAAV es 5.4 kb - 6.7 kb"*. Por el contrario, D3 intentó generar partículas de rAAV con genomas de 5,75 kb, pero informó que *"la mayoría del ADN monocatenario empaquetado de pAAV-CB-FVIII era de aproximadamente 5 kb"*.

Por lo tanto, el documento D3 no enseña las características técnicas esenciales de la reivindicación 26. En consecuencia, la reivindicación 26 y sus dependientes son nuevas frente a D3.

#### Con respecto a la reivindicación 39

Finalmente, con relación a la objeción por falta de novedad de la reivindicación 39 frente a D2, atentamente manifestamos nuestro desacuerdo. Sin embargo, con el propósito de acelerar el proceso y sin aceptar la objeción, la reivindicación 39 ha sido eliminada. Por lo tanto, la objeción a este respecto se debe tener por superada.

De esta forma, se ven superadas las objeciones con respecto a novedad para la presente invención toda vez que es claro que los documentos D2 y D3 no anticipan como un todo, las características técnicas esenciales del método y composición objeto de protección tal como se encuentra reivindicado en el nuevo pliego reivindicatorio.

De acuerdo con los argumentos anteriormente explicados, la invención de la presente solicitud de patente es novedosa sobre los documentos del estado de la técnica D2 y D3 citados por el Examinador.

Teniendo en cuenta las anteriores aclaraciones, es claro que la **presente invención** es novedosa, cumpliendo con los requerimientos de los artículos 14 y 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

#### 4. Nivel inventivo

La materia de invención recitada en la presente solicitud de patente, fue objetada por falta de nivel inventivo frente a un documento del estado de la técnica de la siguiente manera:

- Reivindicación 51: Nivel inventivo frente al documento WO 2015/038625 (D2).

Teniendo en cuenta la objeción por falta de nivel inventivo hacia la reivindicación 51 frente a D2, atentamente manifestamos nuestro desacuerdo. Sin embargo, con el propósito de acelerar el proceso y sin aceptar la objeción, la reivindicación 51 ha sido eliminada. Por lo tanto, la objeción a este respecto se debe tener por superada.

Por lo tanto, un técnico con conocimientos medios en la materia no estaba en condiciones de plantearse el problema, tampoco de resolverlo en la forma en que se reivindica y tampoco de prever el resultado, por lo que la presente solicitud posee la altura inventiva para que se le conceda el privilegio solicitado.

En consecuencia de lo anterior, la invención de la presente solicitud tiene nivel inventivo en vista del documento D2 del estado de la técnica citado por el Examinador.

Teniendo en cuenta las anteriores aclaraciones, es claro que la **presente invención** es inventiva, cumpliendo con los requerimientos de los artículos 14 y 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

## **5. Conclusión**

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

## **6. Anexos**

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 38 reivindicaciones

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/mg

P4762

## **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 5,4kb - 6,7kb;
  - 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 d es 5,4 kb.
3. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el 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.
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 de gran tamaño, en el que el tamaño del genoma de rAAV es de 5,4 kb - 6,7kb.
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 16, 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 15-20, 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 – 6,7kb, 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.

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 37, en donde la una o dos ITRs son ITRs de AAV2 y la cápside es una cápside AAVrh8R o cápside AAV8.