

COMPOSICIONES DE VIRUS ADENOASOCIADO (AAV)

Antecedentes de la Invención

El virus adenoasociado (AAV, por sus siglas en
5 inglés) es un virus pequeño sin envoltura que empaqueta un
genoma de ADN monocatenario lineal. El AAV pertenece a la
familia *Parvoviridae* y al género *Dependovirus*, ya que la
infección productiva por AAV se produce únicamente en presencia
de un virus auxiliar, como por ejemplo, adenovirus o virus del
10 herpes. Incluso en ausencia de un virus auxiliar, el AAV
(serotipo 2) puede lograr la latencia al integrarse en el
cromosoma 19q13.4 de un genoma humano hospedero. Es el único
virus de ADN de mamíferos que se sabe que puede integrarse en
un sitio específico (Daya y Berns, Clinical Microbiology
15 Reviews, páginas 583-593 (2008)).

Para que el AAV se use de forma segura en la clínica,
el AAV se ha modificado genéticamente en varios sitios dentro
de su genoma. Por ejemplo, el gen Rep, que es necesario para
la replicación viral, y el elemento necesario para la
20 integración específica del sitio se han eliminado del genoma
de AAV en muchos vectores virales. Este AAV recombinante
(rAAV), existe en un estado extracromosómico y tiene una
eficiencia de integración muy baja en el ADN genómico. La
posibilidad de que el rAAV induzca mutagénesis aleatoria en
25 una célula hospedadora se reduce así, si no se elimina por

completo. Debido a estas propiedades y la falta de patogenicidad, el rAAV se ha mostrado muy prometedor como vector de terapia génica en múltiples aspectos de las aplicaciones clínicas y preclínicas. En la clínica se están
5 probando nuevos serotipos y vectores autocomplementarios. Junto con estos desarrollos de vectores en curso, el esfuerzo continuo se ha centrado en procesos de fabricación escalables que puedan generar de manera eficiente cantidades elevadas de títulos de vectores rAAV con alta pureza y potencia.

10 La investigación de AAV también se ha centrado en composiciones de AAV destinadas a la administración humana. Se entiende que tales composiciones de AAV no solo deben ser seguras, estériles y de calidad de buenas prácticas de fabricación (GMP, por sus siglas en inglés), estas
15 composiciones también deben exhibir y promover la estabilidad a largo plazo del AAV, minimizando la pérdida de potencia del AAV durante los procesos de fabricación, de envasado y de almacenamiento. Las composiciones deben evitar además la adsorción a las superficies de los recipientes en los que se
20 envasan y almacenan los AAV y de la maquinaria usada durante la fabricación. Aunque los esfuerzos para diseñar tales composiciones de AAV han sido grandes, todavía existe la necesidad de composiciones de AAV mejoradas, especialmente para la administración intracerebroventricular (ICV, por sus siglas
25 en inglés) e intraparenquimal (IPA, por sus siglas en inglés).

Las composiciones descritas también son una posibilidad para la administración intratecal (IT, por sus siglas en inglés) así como intravenosa (IV, por sus siglas en inglés), subcutánea (SC, por sus siglas en inglés), intramuscular (IM, por sus siglas en inglés) e intravítrea (IVT, por sus siglas en inglés).

Breve Descripción de la Invención

La presente descripción proporciona composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas y/o de almacenamiento) compatibles para la administración a humanos (por ejemplo, intracerebroventricular (ICV) e intraparenquimatosa (IPA), intratecal (IT) así como administración intravenosa (IV), subcutánea (SC), intramuscular (IM) e intravítrea (IVT)) que abordan las necesidades insatisfechas descritas anteriormente. Ventajosamente, en algunas modalidades, las composiciones son adecuadas para el almacenamiento a largo plazo de AAV, minimizando la pérdida de potencia de AAV, y ventajosamente previenen la formación de partículas visibles y previenen la adsorción a las superficies de los recipientes en los que se envasan y almacenan los AAV y de la maquinaria usada durante la fabricación.

Los métodos para tratar a un sujeto de un trastorno tratable mediante terapia génica se proporcionan en la presente descripción. En aspectos ejemplares, el método comprende

administrar al sujeto una composición farmacéutica como se describe en el presente documento en una cantidad eficaz para tratar la enfermedad o trastorno.

En ciertos aspectos, la presente invención
5 proporciona una composición acuosa que comprende un vector viral y una formulación amortiguadora (de pH) que comprende: de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de agente estabilizador; de aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de sal farmacéuticamente aceptable; de aproximadamente
10 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de tensioactivo no iónico; y aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM de azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos.

En otros aspectos, la presente invención proporciona una composición acuosa que comprende un vector viral y una
15 formulación amortiguadora que comprende: aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM de agente estabilizador; de aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de tensioactivo no iónico.

20 En otros aspectos, la presente invención proporciona una composición acuosa que comprende un vector viral y una formulación amortiguadora que comprende: aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de agente estabilizador; de aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de sal
25 farmacéuticamente aceptable; y opcionalmente de

aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de tensioactivo no iónico.

En aspectos adicionales, la presente invención proporciona una composición acuosa que comprende un vector
5 viral y una formulación amortiguadora que comprende:
aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM de agente estabilizador; de aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de sal farmacéuticamente aceptable; y opcionalmente de
aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de
10 tensioactivo no iónico.

En determinadas modalidades, las formulaciones amortiguadoras de la presente invención comprenden L-histidina. En determinadas modalidades, las formulaciones amortiguadoras comprenden 1 mM a aproximadamente 20 mM,
15 aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 25 mM a aproximadamente 75 mM o aproximadamente 40 mM hasta aproximadamente 60 mM de L-histidina.

20 En determinadas modalidades, las formulaciones amortiguadoras de la presente invención comprenden citrato de sodio. En determinadas modalidades, las formulaciones amortiguadoras comprenden aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente
25 15 mM, o aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM de citrato

de sodio.

En determinadas modalidades, las formulaciones amortiguadoras de la presente invención comprenden bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, las formulaciones
5 amortiguadoras comprenden de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 35 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM o de aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM de bicarbonato de sodio.

En determinadas modalidades, la sal
10 farmacéuticamente aceptable es una sal de sodio, una sal de amonio o una sal de potasio. En determinadas modalidades, la sal es cloruro de sodio.

En determinadas modalidades, las formulaciones amortiguadoras de la presente invención comprenden
15 aproximadamente 0 a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 50 mM a aproximadamente 150 mM, aproximadamente 110 mM a aproximadamente 130 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 150 mM a
20 aproximadamente 200 mM, aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM, aproximadamente 140 mM a aproximadamente 160 mM, o aproximadamente 150 mM a aproximadamente 160 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente
25 aceptable es cloruro de sodio.

En determinadas modalidades, las formulaciones amortiguadoras de la presente invención comprenden aproximadamente 0.0005% a aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.001% a aproximadamente 0.005% (p/p), o
5 aproximadamente 0.002% a aproximadamente 0.004% (p/p) del tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico es Polisorbatu 80, Pluronic F-68 o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico es Polisorbatu 80. En determinadas
10 modalidades, el Polisorbatu 80 es PS80 Super Refined™.

En determinadas modalidades, las formulaciones amortiguadoras de la presente invención comprenden aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM, o aproximadamente 4 mM a
15 aproximadamente 6 mM de un azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el azúcar es sacarosa, glucosa o una combinación de los mismos.

En determinadas modalidades, las composiciones de la presente invención comprenden agua.

20 En ciertos aspectos, la presente invención proporciona una composición acuosa que comprende un vector viral y una formulación amortiguadora que comprende: aproximadamente 10 mM de L-histidina, aproximadamente 154 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.003% (p/p) de
25 Polisorbatu 80 (PS80), aproximadamente 5 mM de sacarosa; y

agua.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona una composición acuosa que comprende un vector viral y una formulación amortiguadora que comprende:
5 aproximadamente 50 mM de L-histidina, aproximadamente 154 mM de cloruro de sodio y aproximadamente 0.003% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80), y agua.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona una composición acuosa que comprende un vector
10 viral y una formulación amortiguadora que comprende: aproximadamente 10 mM de citrato de sodio, aproximadamente 150 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.003% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80); y agua.

En ciertos aspectos, la presente invención
15 proporciona una composición acuosa que comprende un vector viral y una formulación amortiguadora que comprende: aproximadamente 20 mM de bicarbonato de sodio, aproximadamente 120 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.003% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80); y agua.

20 En determinadas modalidades, las composiciones de la presente invención tienen un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En determinadas modalidades, las composiciones de la
25 presente invención no comprenden glicina, glucosa o tanto

glicina como glucosa.

En general, las composiciones de AAV proporcionadas en este documento son adecuadas para la administración farmacéutica. En determinadas modalidades, el AAV puede ser AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 o AAV10. En determinadas modalidades, el AAV puede ser AAV2, AAV5, AAV6, AAV8 o AAV9. En determinadas modalidades, el AAV puede ser AAV6. En determinadas modalidades, el AAV puede ser AAV8. En determinadas modalidades, el AAV puede ser AAV9. En determinadas modalidades, el vector de AAV se modifica genética y/o químicamente.

En determinadas modalidades, la composición es líquida. En determinadas modalidades, la composición se liofiliza. En determinadas modalidades, la composición está presente en un recipiente de dosis unitaria. En determinadas modalidades, el recipiente de dosis unitaria es un vial. En determinadas modalidades, el vial es un vial de vidrio sellado.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona una composición estable al almacenamiento liofilizada, en la que la composición estable al almacenamiento liofilizada está sustancialmente deshidratada y es capaz de formar cualquiera de las composiciones acuosas descritas en este documento, reconstituyendo la composición estable al almacenamiento liofilizada con diluyente. En determinadas modalidades, la reconstitución comprende combinar la

composición estable al almacenamiento liofilizada con agua para inyección (WFI, por sus siglas en inglés).

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para tratar un trastorno neurológico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas aquí en una cantidad eficaz para tratar un trastorno o enfermedad. En determinadas modalidades, el trastorno o enfermedad es un trastorno neurodegenerativo. En determinadas modalidades, el trastorno neurodegenerativo es esclerosis múltiple ("MS", por sus siglas en inglés)), neurodegeneración relacionada con el SIDA y enfermedad de Alzheimer, meningitis infecciosa, encefalomiелitis, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Hunter, esclerosis lateral amiotrófica o encefalitis.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para tratar un trastorno hemorrágico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento en una cantidad eficaz para tratar un trastorno o enfermedad. En determinadas modalidades, el trastorno o enfermedad es un trastorno hemorrágico. En determinadas modalidades, el trastorno hemorrágico es hemofilia A, hemofilia B, hemofilia C, enfermedad de Von Willebrand (VWD, por sus siglas en inglés), deficiencia de factor I. Deficiencia de factor II, deficiencia de factor V, deficiencia de factor VII, deficiencia

de factor VIII, deficiencia de factor IX, deficiencia de factor X, deficiencia de factor XI, deficiencia de factor XII o deficiencia de factor XIII.

En ciertos aspectos, la presente invención
5 proporciona un método para preparar una composición acuosa que comprende virus adenoasociado (AAV), que comprende: a) combinar L-histidina, Polisorbatu 80 (PS80), sacarosa, agua y opcionalmente cloruro de sodio a una concentración de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de L-histidina,
10 aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80), y aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM de sacarosa, y b) la adición de partículas de AAV, obteniendo así una composición que comprende
15 AAV.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para preparar una composición acuosa que comprende virus adenoasociado (AAV), que comprende: a) combinar L-histidina, Polisorbatu 80 (PS80), agua y opcionalmente
20 cloruro de sodio hasta una concentración de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM de L-histidina, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de cloruro de sodio y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80), y b) añadiendo AAV, obteniendo así una
25 composición que comprende AAV.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método de preparación de una composición acuosa que comprende virus adenoasociado (AAV), que comprende: a) combinar citrato de sodio, Polisorbatu 80 (PS80), agua y
5 opcionalmente cloruro de sodio a una concentración de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de citrato de sodio, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80), y b) agregar AAV, obteniendo
10 así una composición que comprende AAV.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para preparar una composición acuosa que comprende virus adenoasociado (AAV), que comprende: a) combinar bicarbonato de sodio, Polisorbatu 80 (PS80), agua y
15 opcionalmente cloruro de sodio a una concentración de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM de bicarbonato de sodio, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80), y b) agregar AAV, obteniendo
20 así una composición que comprende AAV.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para almacenar de manera estable una composición que comprende un vector viral, que comprende combinar el agente estabilizador, el tensioactivo no iónico y,
25 opcionalmente, la sal y/o el azúcar, alcohol de azúcar, o

combinaciones de las mismas de la composición farmacéutica de cualquiera de las composiciones descritas en este documento.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para preparar una composición de AAV
5 liofilizada de cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento, de una manera suficiente para producir una composición de AAV liofilizada estable al almacenamiento.

En determinadas modalidades, el método comprende introducir una composición de concentrado acuoso en un
10 recipiente de dosificación unitaria y liofilizar la composición del concentrado acuoso en el recipiente de dosificación unitaria. En determinadas modalidades, el recipiente de dosis unitaria es un vial. En determinadas modalidades, el método comprende además sellar la composición liofilizada en el
15 recipiente de dosis unitaria.

En determinadas modalidades, el vector viral tiene un título que es estable cuando se almacena en un intervalo de temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 40 °C durante al menos 6 meses. En determinadas modalidades, el
20 vector viral tiene un título que es estable cuando se almacena en un intervalo de temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 25 °C durante al menos 6 meses. En determinadas modalidades, el vector viral tiene un título que es estable cuando se almacena en un intervalo de temperatura de
25 aproximadamente -20 ° C a aproximadamente 18 ° C durante al

menos 6 meses. En determinadas modalidades, el vector viral tiene un título que es estable cuando se almacena en un intervalo de temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente 4°C durante al menos al menos 6 meses. En

5 determinadas modalidades, el vector viral tiene un título que es estable cuando se almacena en un intervalo de temperatura de aproximadamente 4°C a aproximadamente 40°C durante al menos al menos 6 meses. En determinadas modalidades, el vector viral tiene un título que es estable cuando se almacena en un

10 intervalo de temperatura de aproximadamente 4°C a aproximadamente 25°C durante al menos al menos 6 meses. En determinadas modalidades, el vector viral tiene un título que es estable cuando se almacena en un intervalo de temperatura de aproximadamente 4°C a aproximadamente 18°C durante al

15 menos 6 meses.

Breve Descripción de las Figuras

La Figura 1 es una gráfica del porcentaje de recuperación del título de partículas de AAV8 totales medido mediante ELISA después del almacenamiento a $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante

20 hasta 4 meses y a $\leq -60^{\circ}\text{C}$ durante hasta 6 meses.

La Figura 2 es una gráfica que representa la biopotencia *in vivo* (UI/ml) de partículas de AAV8 durante el almacenamiento a $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante hasta 4 meses y a $\leq -60^{\circ}\text{C}$ durante hasta 6 meses.

25 La Figura 3 es una gráfica del porcentaje de

recuperación de las partículas de AAV8 totales medidas por biopotencia *in vitro* después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C durante hasta 4 meses y a ≤ -60 °C durante hasta 6 meses.

La Figura 4 es una gráfica del porcentaje de recuperación de las partículas de AAV8 totales medidas con ITR-qPCR después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C durante hasta 4 meses y a ≤ -60 °C durante hasta 6 meses.

La Figura 5 es una tinción con plata SDS-PAGE y un Western blot de partículas de AAV8 en el punto de tiempo de 0 meses.

La Figura 6 es una tinción de plata SDS-PAGE de partículas de AAV8 en el punto de tiempo de 1 mes después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C.

La Figura 7 es un Western blot SDS-PAGE de partículas de AAV8 en el punto de tiempo de 1 mes después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C.

La Figura 8 es una tinción con plata SDS-PAGE y un Western blot de partículas de AAV8 en el punto de tiempo de 2 meses después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C.

La Figura 9 es una tinción de plata SDS-PAGE de partículas de AAV8 en el punto de tiempo de 2 meses después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C.

La Figura 10 es un Western blot SDS-PAGE de partículas de AAV8 en el punto de tiempo de 2 meses después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C.

La Figura 11 es una tinción con plata SDS-PAGE y un Western blot de partículas de AAV8 en el punto de tiempo de 3 meses después del almacenamiento a ≤ -60 °C.

La Figura 12 es una tinción de plata SDS-PAGE en el
5 punto de tiempo de 4 meses después del almacenamiento de partículas de AAV8 a $+5 \pm 3$ °C.

La Figura 13 es un Western blot SDS-PAGE de partículas de AAV8 en el punto de tiempo de 6 meses después del almacenamiento a ≤ -60 °C.

10 La Figura 14 es un nsTEM de partículas de AAV8 para la Formulación Amortiguadora 1 (0, 4 y 6 meses).

La Figura 15 es un nsTEM de partículas de AAV8 para la Formulación Amortiguadora 2 (0, 4 y 6 meses).

La Figura 16 es un nsTEM de partículas de AAV8 para
15 la Formulación Amortiguadora 3 (0, 4 y 6 meses).

La figura 17 es un nsTEM de partículas de AAV8 para amortiguador de referencia (0, 4 y 6 meses).

La Figura 18 es una gráfica del porcentaje de recuperación del título de partículas de AAV9 totales medido
20 mediante ELISA después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C durante hasta 6 meses.

La Figura 19 es una gráfica del porcentaje de recuperación de las partículas de AAV9 totales según lo medido por HT2-qPCR después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C
25 durante hasta 6 meses.

La Figura 20 es una gráfica que representa la biopotencia *in vivo* (expresión relativa de mHTT) de partículas de AAV9 durante el almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C durante hasta 6 meses. Cada formulación está agrupada de tres en tres:
5 de izquierda a derecha es la formulación amortiguadora 1, la formulación amortiguadora 2, la formulación amortiguadora 3 y amortiguador de referencia.

La Figura 21 es una tinción con plata SDS-PAGE y un Western blot de partículas de AAV9 en el punto de tiempo de 0
10 meses (material de partida).

La Figura 22 es una mancha de tinción de plata SDS-PAGE de partículas de AAV9 en el punto de tiempo de 4 semanas después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (izquierda) así como a ≤ -60 °C (centro).

15 La Figura 23 es un Western blot SDS-PAGE de partículas de AAV9 (anti-cápside) en el punto de tiempo de 4 semanas después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (izquierda) así como a ≤ -60 °C (centro).

La Figura 24 es una tinción de plata SDS-PAGE de
20 partículas de AAV9 en el punto de tiempo de 8 semanas después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (izquierda) así como a ≤ -60 °C (derecha).

La Figura 25 es un Western blot SDS-PAGE (anti-cápside) de partículas de AAV9 en el punto de tiempo de 8
25 semanas después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (izquierda) así

como a ≤ -60 °C (derecha).

La Figura 26 es una tinción de plata SDS-PAGE de partículas de AAV9 en el punto de tiempo de 3 meses después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (izquierda) así como a ≤ -60 °C (derecha).

La Figura 27 es un Western blot SDS-PAGE (anti-cápside) de partículas de AAV9 en el punto de tiempo de 3 meses después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (izquierda) así como a ≤ -60 °C (derecha).

La Figura 28 es una tinción de plata SDS-PAGE de partículas de AAV9 en el punto de tiempo de 6 meses después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (izquierda) así como a ≤ -60 °C (derecha).

La Figura 29 es un Western blot SDS-PAGE (anti-cápside) de partículas de AAV9 en el punto de tiempo de 6 meses después del almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (izquierda) así como a ≤ -60 °C (derecha).

La Figura 30 es un nsTEM de partículas de AAV9 para la Formulación Amortiguadora 1 (0 meses, 90 días y 6 meses).

La Figura 31 es un nsTEM de partículas de AAV9 para la Formulación Amortiguadora 2 (0 meses, 90 días y 6 meses).

La Figura 32 es un nsTEM de partículas de AAV9 para la Formulación Amortiguadora 3 (0 meses, 90 días y 6 meses).

La Figura 33 es un nsTEM de AAV9 en amortiguador de referencia en el punto de tiempo de 0 meses.

La Figura 34 es una tinción con plata SDS-PAGE de partículas de AAV6 (0, 1 y 2 meses).

La Figura 35 es un Western blot SDS-PAGE (anti-cápside) de partículas de AAV6 (0, 1 y 2 meses).

5 **Descripción Detallada de la Invención**

La presente descripción proporciona composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticas, compatibles para la administración humana o veterinaria que también son adecuadas para el almacenamiento a largo plazo de AAV y minimizan la
10 pérdida de potencia de AAV. Las composiciones proporcionadas en este documento son ventajosas, porque las composiciones evitan la formación de partículas visibles y también evitan la adsorción a las superficies de los recipientes en los que se envasan y almacenan los AAV, y evitan la adsorción a la
15 maquinaria usada durante la fabricación. En determinadas modalidades, las composiciones proporcionadas en este documento retienen una actividad AAV significativa cuando se almacenan durante períodos de tiempo prolongados. En determinadas modalidades, las composiciones proporcionadas
20 aquí reducen o retrasan la degradación y/o agregación.

Definiciones

Como se usa en este documento, el término "vector viral" puede referirse a un virus o partícula viral capaz de transferir un ácido nucleico a una célula o al propio ácido
25 nucleico transferido. Los vectores virales y los plásmidos de

transferencia contienen elementos genéticos estructurales y/o funcionales que se derivan principalmente de un virus.

Como se usa en el presente documento, el término "AAV" se refiere a un vector viral adenoasociado en formas tanto naturales como recombinantes (rAAV) y abarca formas 5
mutantes de AAV. El término AAV incluye además, pero no se limita a, AAV tipo 1, AAV tipo 2, AAV tipo 3, AAV tipo 4, AAV tipo 5, AAV tipo 6, AAV tipo 7, AAV tipo 8, AAV tipo 9, tipo AAV 10, AAV aviar, AAV bovino, AAV canino, AAV equino, AAV 10
ovino, AAV de primates y AAV de no primates. En determinadas modalidades, el AAV puede ser AAV6. En determinadas modalidades, el AAV puede ser AAV8. En determinadas modalidades, el AAV puede ser AAV9. En determinadas modalidades, el AAV puede modificarse genéticamente. En 15
determinadas modalidades, los AAV se modifican químicamente.

La frase "farmacéuticamente aceptable", como se usa en relación con las composiciones descritas en este documento, se refiere a entidades moleculares y otros ingredientes de tales composiciones que son fisiológicamente tolerables y no 20
producen típicamente reacciones adversas cuando se administran a un sujeto. Preferiblemente, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o listado en la Farmacopea de los Estados Unidos de América u otra farmacopea en general 25
reconocida para uso en mamíferos, y más particularmente en

humanos. Una "sal farmacéuticamente aceptable" es una sal que se puede formular en un compuesto o conjugado para uso farmacéutico que incluye, por ejemplo, sales metálicas (sodio, potasio, magnesio, calcio, etc.) y sales de amonio o aminas orgánicas que son seguras para administración a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) en una composición de fármaco (véase, por ejemplo, Berge, et al. "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 1977; 66: 1, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad y para todos los propósitos). Las "sales farmacéuticamente aceptables" adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales metálicas tales como sales de sodio, potasio y cesio; sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio y magnesio; sales de amina orgánica tales como trietilamina, guanidina y sales de guanidina N-sustituida, acetamidina y acetamidina N-sustituida, piridina, picolina, etanolamina, trietanolamina, diciclohexilamina y sales de N, N'-dibenciletilendiamina. Las "sales farmacéuticamente aceptables" (de centros de nitrógeno básico) incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos inorgánicos tales como clorhidrato, bromhidrato, sulfato, fosfato; sales de ácidos orgánicos tales como sales de trifluoroacetato y maleato; sulfonatos tales como metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, canforsulfonato y naftalenosulfonato; sales de aminoácidos tales como arginato, alaninato, asparaginato y glutamato; y sales de carbohidratos

tales como gluconato y galacturonato. La selección y el uso de sales farmacéuticamente aceptables es bien conocido en la técnica, por ejemplo, véase Stahl y Wermuth, *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, 2a edición revisada, Wiley, Hoboken, NJ, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad y para todos los efectos. Los ejemplos no limitantes de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, sales de sodio, sales de amonio, sales de potasio (por ejemplo, cloruro de sodio, amonio y potasio; acetato de sodio, amonio y potasio; citrato de sodio, amonio y potasio; sodio, fosfato de amonio y potasio; fluoruro de sodio, amonio y potasio; bromuro de sodio, amonio y potasio; y yoduro de sodio, amonio y potasio).

Como se usa en este documento, los términos "tratar" o "tratamiento" de un estado, trastorno o afección incluyen: (1) prevenir, retrasar o reducir la incidencia y/o la probabilidad de la aparición de al menos una enfermedad clínica o síntoma sub-clínico del estado, trastorno o afección que se desarrolla en un sujeto que puede estar afectado de o predispuesto al estado, trastorno o afección, pero que aún no experimenta ni muestra síntomas clínicos o subclínicos del estado, trastorno o afección; o (2) inhibir el estado, trastorno o afección, es decir, detener, reducir o ralentizar el desarrollo/progresión de la enfermedad o una recaída de la misma o al menos uno de sus síntomas clínicos o subclínicos; o

(3) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión del estado, trastorno o afección o al menos uno de sus síntomas clínicos o subclínicos. Tal como se usan estos términos, no implican necesariamente el 100% o un tratamiento completo. Más bien, existen diversos grados de tratamiento que un experto en la técnica reconoce que tienen un beneficio o efecto terapéutico potencial. El beneficio para un sujeto a tratar es estadísticamente significativo o al menos perceptible para el paciente o el médico. A este respecto, los métodos de tratamiento de un trastorno, por ejemplo, una enfermedad o trastorno hemorrágico o neurológico, de la presente descripción pueden proporcionar cualquier cantidad o nivel de tratamiento. Además, el tratamiento proporcionado por el método de la presente descripción puede incluir el tratamiento de una o más afecciones o síntomas o signos del trastorno que se está tratando.

Como se usa en el presente documento, una "cantidad o dosis terapéuticamente eficaz" o "cantidad o dosis suficiente" se refiere a una dosis que produce los efectos para los que se administra. La dosis exacta dependerá del propósito del tratamiento y la podrá determinar un experto en la técnica usando técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); Pickar, Dosage Calculations (1999); y Remington: The Science

and Practice of Pharmacy, 20^a edición, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins).

Los términos "paciente" y "sujeto" se usan indistintamente y se usan en su sentido convencional para referirse a un organismo vivo que padece o es propenso a una afección que puede prevenirse o tratarse mediante la administración de una composición de la presente descripción, e incluye tanto a humanos como a animales no humanos. Los ejemplos de sujetos incluyen, pero no se limitan a, humanos, chimpancés y otras especies de simios y monos; animales de granja tales como ganado vacuno, ovino, porcino, caprino y equino; mamíferos domésticos tales como perros y gatos; animales de laboratorio, incluidos roedores tales como ratones, ratas y cobayos; aves, incluidas aves domésticas, salvajes y de caza tales como pollos, pavos y otras aves gallináceas, patos, gansos y similares. El término no denota una edad en particular. Por tanto, los individuos adultos, juveniles y recién nacidos son de interés.

Como se usa en este documento, "almacenamiento" significa que una composición no se administra inmediatamente a un sujeto una vez preparada, sino que se mantiene durante un período de tiempo en condiciones particulares (por ejemplo, temperatura particular, etc.) antes de su uso. Por ejemplo, una composición líquida o liofilizada se puede conservar durante días, semanas, meses, un mes, dos meses, tres meses,

cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, 10 meses, 11 meses, un año, dos años, tres años, cuatro años, cinco años, seis años, siete años u ocho años, antes de la administración a un sujeto bajo temperaturas
5 variadas tales como refrigerado (0 °C a +10 °C) o (0 °C a +18 °C), congelada (0 °C a -190 °C), o temperatura ambiente (por ejemplo, temperatura hasta +20 °C a + 32 °C). En determinadas modalidades, la composición es estable a aproximadamente +4 °C a aproximadamente +18 °C durante al menos 6 meses.

10 Como se usa en este documento, el término "aproximadamente" indica un intervalo aproximado de más o menos el 10% de un valor especificado. Por ejemplo, el lenguaje "alrededor del 20%" abarca un intervalo del 18 al 22%. Como se usa en este documento, aproximadamente también incluye la
15 cantidad exacta. Por lo tanto, "aproximadamente 20%" significa "aproximadamente 20%" y también "20%".

 Como se usa en este documento, el término "y/o" se refiere y abarca todas y cada una de las combinaciones posibles de uno o más de los elementos enumerados asociados, así como
20 la falta de combinaciones cuando se interpreta en la alternativa ("o").

 Como se usa en este documento, el término "o" se refiere a cualquier miembro de una lista particular y también incluye cualquier combinación de miembros de esa lista.

25 Como se usa en este documento, los términos "un" y

"una" y "el" y "la" y referentes similares en el contexto de la descripción de la descripción (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) deben interpretarse para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en este documento o que el contexto lo contradiga claramente. Los términos "que comprende", "que tiene", "que incluye" y "que contiene" deben interpretarse como términos abiertos (es decir, que significa "que incluye, pero no se limita a") a menos que se indique lo contrario.

La indicación de los intervalos de valores en el presente documento está simplemente destinada a servir como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que se encuentra dentro del intervalo y cada punto final, a menos que se indique lo contrario en el presente documento, y cada valor y punto final separados se incorporan en la descripción como si se indicara individualmente en este documento.

Composiciones Virales

En un aspecto, la presente invención proporciona composiciones acuosas estabilizadas para el almacenamiento y/o administración de vectores virales (por ejemplo, AAV). En determinadas modalidades, las composiciones son estables durante al menos aproximadamente seis meses. En determinadas modalidades, las composiciones son estables cuando se almacenan a temperaturas de hasta al menos aproximadamente 40 °C durante

al menos aproximadamente seis meses. En otras modalidades, las composiciones proporcionadas en este documento retienen una biopotencia del vector viral (por ejemplo, AAV) significativa (por ejemplo, suministro de genes, infectividad, expresión de la proteína de interés, etc.) cuando se almacenan durante períodos de tiempo prolongados. En otras modalidades más, las composiciones de la invención reducen o retardan la degradación y/o agregación de partículas virales (por ejemplo, AAV). En otras modalidades, las composiciones proporcionadas en este documento retienen la integridad de la cápside viral (por ejemplo, AAV).

En una modalidad, la presente invención proporciona composiciones de cápsides virales (por ejemplo, AAV) que comprenden una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz de las partículas virales (por ejemplo, AAV), una concentración subfisiológica a fisiológica de una sal farmacéuticamente aceptable, una concentración estabilizante de uno o más azúcares, alcoholes de azúcar y/o aminoácidos, un tensioactivo no iónico y opcionalmente un agente amortiguador. Generalmente, las composiciones virales estabilizadas (por ejemplo, AAV) proporcionadas en este documento son adecuadas para la administración farmacéutica. En determinadas modalidades, el virus es AAV. En determinadas modalidades, el AAV es AAV2, AAV5, AAV6, AAV8 o AAV9.

En determinadas modalidades, las composiciones

virales (por ejemplo, AAV) son composiciones líquidas. En otras modalidades, las composiciones virales (por ejemplo, AAV) son composiciones liofilizadas que se liofilizan a partir de una composición líquida como se proporciona en el presente documento.

En ciertos casos, la composición puede ser una composición estéril. Por "estéril" se entiende que sustancialmente no hay microbios u otros microorganismos vivos (por ejemplo, hongos, bacterias, virus adicionales, formas de esporas, etc.).

En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 1 a aproximadamente 40 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente

30 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 35 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM, aproximadamente 20 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 20 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 20 mM a aproximadamente 30 mM aproximadamente 25 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 40 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 40 mM a aproximadamente 60 mM, aproximadamente 40 mM a aproximadamente 50 mM, o aproximadamente 50 mM a aproximadamente 75 mM de un agente estabilizador. En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 5 mM, aproximadamente 6 mM, aproximadamente 7 mM, aproximadamente 8 mM, aproximadamente 9 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 11 mM, aproximadamente 12 mM, aproximadamente 13 mM, aproximadamente 14 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente 16 mM, aproximadamente 17 mM, aproximadamente 18 mM, aproximadamente 19 mM, aproximadamente 20 mM, aproximadamente 21 mM, aproximadamente 22 mM,

aproximadamente 23 mM, aproximadamente 24 mM, aproximadamente 25 mM, aproximadamente 26 mM, aproximadamente 27 mM, aproximadamente 28 mM, aproximadamente 29 mM, aproximadamente 30 mM, aproximadamente 35 mM, aproximadamente 40 mM, aproximadamente 45 mM, aproximadamente 50 mM, aproximadamente 55 mM, aproximadamente 60 mM, aproximadamente 65 mM, aproximadamente 70 mM o aproximadamente 75 mM de un agente estabilizador. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser de aproximadamente 10 mM. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser de aproximadamente 20 mM. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser de aproximadamente 50 mM.

Los agentes estabilizadores farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica e incluyen, sin limitación, amortiguadores de fosfato, histidina, citrato de sodio, HEPES, Tris, Bicine, glicina, N-glicilglicina, acetato de sodio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio (NaHCO_3), glicil-glicina, lisina, arginina, fosfato de sodio y mezclas de los mismos. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser histidina (por ejemplo, L-histidina). En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador no es bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador no

es glicina.

En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 1 a aproximadamente 40 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 35 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM, aproximadamente 20 mM a aproximadamente 75 mM,

aproximadamente 20 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 20 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 25 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 40 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 40 mM a aproximadamente 60 mM, aproximadamente 40 mM a aproximadamente 50 mM, o aproximadamente 50 mM a aproximadamente 75 mM de L-histidina. En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 35 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 25 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 20 mM, de aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 75 mM, o de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 60 mM de L-histidina. En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 1 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 75 mM,

aproximadamente 5 mM a aproximadamente 60 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 60 mM, aproximadamente 20 mM a aproximadamente 60 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 60 mM, o aproximadamente 40 mM a aproximadamente 60 mM L-histidina. En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 5 mM, aproximadamente 6 mM, aproximadamente 7 mM, aproximadamente 8 mM, aproximadamente 9 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 11 mM, aproximadamente 12 mM, aproximadamente 13 mM, aproximadamente 14 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente 16 mM, aproximadamente 17 mM, aproximadamente 18 mM, aproximadamente 19 mM, aproximadamente 20 mM, aproximadamente 21 mM, aproximadamente 22 mM, aproximadamente 23 mM, aproximadamente 24 mM, aproximadamente 25 mM, aproximadamente 26 mM, aproximadamente 27 mM, aproximadamente 28 mM, aproximadamente 29 mM, aproximadamente 30 mM, aproximadamente 35 mM, aproximadamente 40 mM, aproximadamente 45 mM, aproximadamente 50 mM, aproximadamente 55 mM, aproximadamente 60 mM, aproximadamente 65 mM, aproximadamente 70 mM o aproximadamente 75 mM de L-histidina. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 10 mM de L-histidina. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 50 mM de L-histidina.

En determinadas modalidades, las formulaciones

amortiguadoras de L-histidina no precipitan a intervalos de temperatura por debajo de +8 °C.

En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 35 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 20 mM o aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM de citrato de sodio o bicarbonato de sodio. En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 5 mM, aproximadamente 6 mM, aproximadamente 7 mM, aproximadamente 8 mM, aproximadamente 9 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 11 mM, aproximadamente 12 mM, aproximadamente 13 mM, aproximadamente 14 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente 16 mM, aproximadamente 17 mM, aproximadamente 18 mM, aproximadamente 19 mM, aproximadamente 20 mM, aproximadamente 21 mM, aproximadamente 22 mM, aproximadamente 23 mM, aproximadamente

24 mM, aproximadamente 25 mM de citrato de sodio o bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 10 mM de citrato de sodio. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 20 mM de bicarbonato de sodio.

En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 200 mM, aproximadamente 120 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 150 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 154 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 200 mM, aproximadamente 120 mM a aproximadamente 200 mM, aproximadamente 150 mM a aproximadamente 200 mM, aproximadamente 154 mM a aproximadamente 200 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 175 mM, aproximadamente 120 mM a aproximadamente 175 mM, aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM, aproximadamente 150 mM a aproximadamente 175 mM, aproximadamente 154 mM a aproximadamente 175 mM, aproximadamente 140 mM a aproximadamente 160 mM, o aproximadamente 150 mM a aproximadamente 160 mM de una sal farmacéuticamente aceptable (como se definido anteriormente). En aspectos ejemplares, la

formulación amortiguadora de la presente descripción comprende

aproximadamente 100 mM, aproximadamente 105 mM,

aproximadamente 110 mM, aproximadamente 115 mM,

aproximadamente 120 mM, aproximadamente 125 mM,

5 aproximadamente 130 mM, aproximadamente 135 mM,

aproximadamente 140 mM, aproximadamente 145 mM,

aproximadamente 150 mM, aproximadamente 154 mM,

aproximadamente 155 mM, aproximadamente 160 mM,

aproximadamente 170 mM, aproximadamente 175 mM,

10 aproximadamente 180 mM, aproximadamente 190 mM,

aproximadamente 200 mM, aproximadamente 210 mM,

aproximadamente 220 mM, aproximadamente 225 mM,

aproximadamente 230 mM, aproximadamente 240 mM o

aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable.

15 En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser una sal de sodio (por ejemplo, cloruro de sodio). En determinadas modalidades, la concentración de la sal farmacéuticamente aceptable puede ser de aproximadamente 120 mM de cloruro de sodio. En determinadas modalidades, la

20 concentración de la sal farmacéuticamente aceptable puede ser de aproximadamente 150 mM de cloruro de sodio. En determinadas modalidades, la concentración de la sal farmacéuticamente aceptable puede ser de aproximadamente 154 mM de cloruro de sodio.

25 Sin estar ligado a ninguna teoría, la concentración

subfisiológica de una sal farmacéuticamente aceptable puede formar tortas liofilizadas compactas con menor contenido de humedad y ayuda a la formación de una torta liofilizada mejorada. En determinadas modalidades, la concentración

5 subfisiológica de la sal farmacéuticamente aceptable da como resultado tortas liofilizadas blancas, compactas y homogéneas. Por consiguiente, en determinadas modalidades, la presente descripción proporciona composiciones bajas en sal que contienen una concentración subfisiológica de una sal

10 farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, menos de aproximadamente 100 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En una modalidad, una composición baja en sal proporcionada en este documento contiene menos de aproximadamente 100 mM de una sal farmacéutica. En determinadas modalidades, una composición

15 baja en sal proporcionada en este documento contiene menos de aproximadamente 80 mM de una sal farmacéutica. En determinadas modalidades, una composición baja en sal proporcionada en este documento contiene menos de aproximadamente 70 mM de una sal farmacéutica. En otra modalidad, una composición baja en sal

20 proporcionada en la presente contiene menos de aproximadamente 60 mM de una sal farmacéutica. En otra modalidad, una composición baja en sal proporcionada en este documento contiene menos de aproximadamente 50 mM de una sal farmacéutica. En otra modalidad, una composición baja en sal

25 proporcionada en este documento contiene menos de

aproximadamente 40 mM de una sal farmacéutica. En otra modalidad, una composición baja en sal proporcionada en la presente contiene menos de aproximadamente 30 mM de una sal farmacéutica. En otra modalidad, una composición baja en sal proporcionada en este documento contiene menos de aproximadamente 20 mM de una sal farmacéutica. En otra modalidad, una composición baja en sal proporcionada en este documento contiene menos de aproximadamente 10 mM de una sal farmacéutica. En determinadas modalidades, no están presentes sales farmacéuticas. En otra modalidad, una composición baja en sal contiene entre aproximadamente 30 mM y aproximadamente 60 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En otras modalidades más, una composición baja en sal contiene aproximadamente 0 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente 20 mM, aproximadamente 25 mM, aproximadamente 30 mM, aproximadamente 35 mM, aproximadamente 40 mM, aproximadamente 45 mM, aproximadamente 50 mM, aproximadamente 55 mM, aproximadamente 60 mM, aproximadamente 65 mM, aproximadamente 70 mM, aproximadamente 75 mM, aproximadamente 80 mM, aproximadamente 85 mM, aproximadamente 90 mM, aproximadamente 95 mM o aproximadamente 100 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la composición de la presente descripción comprende aproximadamente 0 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la

composición de la presente descripción comprende aproximadamente 30 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la composición de la presente descripción comprende aproximadamente 40 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la composición de la presente descripción comprende aproximadamente 50 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la composición de la presente descripción comprende aproximadamente 60 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la composición de la presente descripción comprende aproximadamente 70 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, la composición de la presente descripción comprende aproximadamente 80 mM de una sal farmacéuticamente aceptable. En una modalidad preferida, una composición baja en sal es una composición liofilizada. En una modalidad preferida, la sal es una sal de sodio (por ejemplo, cloruro de sodio).

Ventajosamente, también se encontró que la inclusión de un tensioactivo no iónico reduce sustancialmente la pérdida de virus (por ejemplo, AAV) en las superficies y evita la formación de partículas visibles de las composiciones. Por consiguiente, en determinadas modalidades, se proporcionan composiciones que contienen una concentración estabilizante de un detergente no iónico. Los tensioactivos no iónicos

farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en las composiciones descritas en este documento son conocidos en la técnica de la ciencia farmacéutica e incluyen, sin limitación, Polisorbatu 80 (Tween 80; PS80), Polisorbato 20 (Tween 20; PS20) y varios poloxámeros o Pluronic, incluidos Pluronic F-68 y BRIJ 35, o mezclas de los mismos. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico usado en la formulación amortiguadora puede ser Polisorbatu 80. En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende PS80 Super Refined™ disponible comercialmente de Croda Health Care (Snaith, Reino Unido). En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico usado en la formulación amortiguadora puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico usado en la formulación amortiguadora puede ser Polysorbate (Polisorbato) 80 y Pluronic F-68.

En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p), aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p), aproximadamente 0.0025% (p/p) a aproximadamente 0.0075% (p/p), aproximadamente 0.005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p) o

aproximadamente 0.002% (p/p) hasta aproximadamente 0.004% (p/p) de tensioactivo no iónico. En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 0.001% (p/p), aproximadamente 0.0015% (p/p), aproximadamente 0.002% (p/p), aproximadamente 0.0025% (p/p), aproximadamente 0.003% (p/p), aproximadamente 0.0035% (p/p), aproximadamente 0.004% (p/p), aproximadamente 0.0045% (p/p), aproximadamente 0.005% (p/p), aproximadamente 0.0055% (p/p), aproximadamente 0.006 % (p/p), aproximadamente 0.0065% (p/p), aproximadamente 0.007% (p/p), aproximadamente 0.0075% (p/p), aproximadamente 0.008% (p/p), aproximadamente 0.0085% (p/p)), aproximadamente 0.009% (p/p), aproximadamente 0.0095% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p), aproximadamente 0.002% (p/p), aproximadamente 0.003% (p/p), aproximadamente 0.004% (p/p), o aproximadamente 0.005% de tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, la composición amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.003% (p/p) de tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.005% (p/p) de tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.006% (p/p) de tensioactivo no iónico.

En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.0001%

(p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p), aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p), aproximadamente 0.0025% (p/p) a aproximadamente 0.0075% (p/p), aproximadamente 0.005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p) o aproximadamente 0.002% (p/p) hasta aproximadamente el 0.004% (p/p) de Polisorbato 80 (por ejemplo, PS80 Super Refined™) y/o Pluronic F-68. En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora comprende aproximadamente 0.001% (p/p), aproximadamente 0.0015% (p/p), aproximadamente 0.002% (p/p), aproximadamente 0.0025% (p/p), aproximadamente 0.003% (p/p), aproximadamente 0.0035% (p/p), aproximadamente 0.004% (p/p), aproximadamente 0.0045% (p/p), aproximadamente 0.005% (p/p), aproximadamente 0.0055% (p/p), aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.0065% (p/p), aproximadamente 0.007% (p/p), aproximadamente 0.0075% (p/p), aproximadamente 0.008% (p/p), aproximadamente 0.0085% (p/p), aproximadamente 0.009% (p/p), aproximadamente 0.0095% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p), aproximadamente 0.002% (p/p), aproximadamente 0.003% (p/p), aproximadamente 0.004% (p/p), o aproximadamente 0.005% de PS80 y/o Pluronic F-68. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.003% (p/p) de PS80. En determinadas modalidades, la formulación

amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.005% (p/p) de PS80 y/o Pluronic F-68. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.003% (p/p) de Pluronic F-68. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.005% (p/p) de Pluronic F-68. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.003% (p/p) de PS80 y Pluronic F-68. En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.005% a aproximadamente 0.006% (p/p) de PS80 y Pluronic F-68.

En determinadas modalidades, la formulación amortiguadora de la presente descripción comprende aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM de uno o más azúcar y/o alcohol de azúcar. Cualquier azúcar, tal como mono-, di- o polisacáridos, o glucanos solubles en agua, incluidos, por ejemplo, fructosa, glucosa, manosa, sorbosa, xilosa, maltosa, lactosa, sacarosa, dextrano, trehalosa, pululano, dextrina, ciclodextrina, almidón soluble, hidroxietil-almidón y carboximetilcelulosa pueden usarse. En una modalidad particular, el azúcar puede ser sacarosa, glucosa, trehalosa o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, la trehalosa puede ser trehalosa

dihidratada. Los alcoholes de azúcar se definen como un hidrocarburo que tiene entre aproximadamente 4 y aproximadamente 8 átomos de carbono y un grupo hidroxilo. Los ejemplos no limitantes de alcoholes de azúcar que se pueden
5 usar en las formulaciones amortiguadoras proporcionadas en este documento incluyen manitol, sorbitol, inositol, galactitol, dulcitol, xilitol y arabitól. En determinadas modalidades, el manitol se puede usar como aditivo de alcohol de azúcar. En determinadas modalidades, una formulación amortiguadora
10 contiene tanto un azúcar como un aditivo de alcohol de azúcar. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa. En determinadas modalidades, el azúcar es glucosa. En determinadas modalidades, el azúcar no es glucosa.

Sin estar comprometidos por la teoría, se añade
15 sacarosa a la formulación amortiguadora porque la sacarosa puede atravesar las membranas neurales, lo que puede ayudar a transportar el vector AAV al interior de la célula.

Los azúcares y alcoholes de azúcar pueden usarse individualmente o en combinación. En algunas modalidades, el
20 azúcar, el alcohol de azúcar o una combinación de los mismos estarán presentes en la composición a una concentración de aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM, de 0.1 mM a aproximadamente 15 mM, de 0.1 mM a aproximadamente 10 mM, de 0.5 mM a aproximadamente 15 mM., aproximadamente 1 mM a
25 aproximadamente 20 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente

15 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM,
aproximadamente 1 mM a aproximadamente 5 mM, aproximadamente 2
mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 2 mM a
aproximadamente 15 mM, aproximadamente 2 mM a aproximadamente
5 10 mM, aproximadamente 2 mM a aproximadamente 5 mM,
aproximadamente 3 mM a aproximadamente 20 mM, 3 mM a
aproximadamente 15 mM, 3 mM a aproximadamente 10 mM,
aproximadamente 3 mM a aproximadamente 5 mM, aproximadamente 4
mM a aproximadamente 20 mM, 4 mM a aproximadamente 15 mM,
10 aproximadamente 4 mM a aproximadamente 10 mM, aproximadamente
4 mM a aproximadamente 6 mM, aproximadamente 4 mM a
aproximadamente 5 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente
20 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM,
aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM, o aproximadamente
15 10 mM a aproximadamente 20 mM. En aspectos ejemplares, la
formulación amortiguadora de la presente descripción comprende
aproximadamente 0.1 mM, aproximadamente 0.5 mM,
aproximadamente 1 mM, aproximadamente 2 mM, aproximadamente 3
mM, aproximadamente 4 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente
20 6 mM, aproximadamente 7 mM, aproximadamente 8 mM ,
aproximadamente 9 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente
11 mM, aproximadamente 12 mM, aproximadamente 13 mM,
aproximadamente 14 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente
16 mM, aproximadamente 17 mM, aproximadamente 18 mM,
25 aproximadamente 19 mM, aproximadamente 20 mM, aproximadamente

25 mM, o aproximadamente 30 mM de azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa, glucosa o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser
5 sacarosa. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa 5 mM. En determinadas modalidades, el azúcar es glucosa. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser glucosa 5 mM. En determinadas modalidades, el azúcar no es glucosa.

10 En aspectos ejemplares, la formulación amortiguadora de la presente descripción no comprende glicina.

 En aspectos ejemplares, la composición de la presente descripción no comprende manitol. En aspectos ejemplares, la composición de la presente descripción no comprende trehalosa.

15 En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM de
20 un agente estabilizador, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p) de un tensioactivo no iónico, y aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM de un azúcar, alcohol de azúcar, o una
25 combinación de los mismos.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que
5 comprende de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 75 mM de un agente estabilizador, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable, y de aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p) de un tensioactivo no iónico.

10 En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 1 mM a aproximadamente 30 mM de un
15 agente estabilizador, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, de aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de un tensioactivo no iónico.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por
20 ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente
25 1 mM a aproximadamente 15 mM, o aproximadamente 5 mM a

aproximadamente 15 mM de un agente estabilizador; aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 150 mM a aproximadamente 200 mM, aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM, aproximadamente 140 mM a aproximadamente 160 mM, o aproximadamente 150 mM a aproximadamente 160 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p), aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p), o aproximadamente 0.002% (p/p) a aproximadamente 0.004% (p/p) de un tensioactivo no iónico; y aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 15 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM, o aproximadamente 4 mM a aproximadamente 6 mM de un azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico

puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa y/o glucosa.

5 En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de
10 un agente estabilizador; de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; de aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de un tensioactivo no iónico; y de aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM de un azúcar, alcohol de azúcar o una
15 combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser
20 cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el azúcar puede
25 ser sacarosa y/o glucosa.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que
5 comprende de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; de aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de un tensioactivo no iónico; y de aproximadamente 0.1 mM a
10 aproximadamente 20 mM de un azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas
15 modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y
20 Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa y/o glucosa.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus
25 adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que

comprende de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 200 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; de aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p) de un tensioactivo no iónico; y de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 15 mM de un azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa y/o glucosa.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; de aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p)

de un tensioactivo no iónico; y de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM de un azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa y/o glucosa.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 150 mM a aproximadamente 160 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; aproximadamente 0.002% (p/p) a aproximadamente 0.004% (p/p) de un tensioactivo no iónico; y de aproximadamente 4 mM a aproximadamente 6 mM de un azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina o citrato de sodio.

En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa y/o glucosa.

10 En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 10 mM de un agente estabilizador; 15 aproximadamente 154 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; aproximadamente 0.003% (p/p) de un tensioactivo no iónico; y aproximadamente 5 mM de un azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de 20 sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el 25 tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas

modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el azúcar puede ser sacarosa y/o glucosa.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 75 mM, aproximadamente 25 mM a aproximadamente 75 mM, o aproximadamente 40 mM a aproximadamente 60 mM de un agente estabilizador; aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 200 mM, aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM, o aproximadamente De 140 mM a aproximadamente 160 mM, o de 150 mM a aproximadamente 160 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p), aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p), o de aproximadamente 0.002% (p/p) a aproximadamente 0.004% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de

sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0001% (p/v) a aproximadamente 0.01% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y

Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus
5 adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0001% (p/v) a aproximadamente 0.01% (p/p)
10 de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser
15 cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

20 En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 75 mM de
25 un agente estabilizador; de aproximadamente 100 mM a

aproximadamente 200 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0005% (p/v) a aproximadamente 0.006% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 75 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser

cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y
5 Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que
10 comprende de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 60 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 150 mM a aproximadamente 160 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y de aproximadamente 0.002% (p/p) a aproximadamente 0.004% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas
15 modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el
20 tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por
25 ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de

almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 50 mM de un agente estabilizador; aproximadamente 154 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.003% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM, o aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM de un agente estabilizador; aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 100 mM a

aproximadamente 250 mM, aproximadamente 100 mM a
aproximadamente 200 mM, o aproximadamente 140 mM a
aproximadamente 160 mM de un sal farmacéuticamente aceptable;
y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p),
5 aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p),
aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p),
o aproximadamente 0.002% (p/p) a aproximadamente 0.004% (p/p)
de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el
agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de
10 sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el
agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En
determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable
puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el
tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas
15 modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-
68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico
puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por
ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de
20 almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus
adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que
comprende de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de
un agente estabilizador; de aproximadamente 30 mM a
aproximadamente 100 mM de una sal farmacéuticamente aceptable;
25 y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p)

de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En 5 determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico 10 puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que 15 comprende de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el 20 agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el 25 tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas

modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 200 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que

comprende de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 140 mM a aproximadamente 160 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.002% (p/p) a aproximadamente 0.004% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el

agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 10 mM de un agente estabilizador; aproximadamente 150 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.003% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de

almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 35 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, o aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM de un agente estabilizador; aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM, aproximadamente 50 mM a aproximadamente 150 mM, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 150 mM, o aproximadamente 110 mM a aproximadamente 130 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p), aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p), aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p), o aproximadamente 0.002% (p/p) a aproximadamente 0.004% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el

tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus
5 adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p)
10 de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable
15 puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

20 En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM de
25 un agente estabilizador; de aproximadamente 0 mM a

aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 35 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.0005% (p/p) a aproximadamente 0.006% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable

puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 150 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de

almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende de aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM de un agente estabilizador; de aproximadamente 110 mM a 5 aproximadamente 130 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.002% (p/p) a aproximadamente 0.004% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser L-histidina, bicarbonato de sodio o citrato de sodio. En determinadas modalidades, el 10 agente estabilizador puede ser bicarbonato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F- 15 68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

En aspectos ejemplares, la composición acuosa (por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables y/o de almacenamiento) de la presente descripción comprende: virus 20 adenoasociado (AAV) y una formulación amortiguadora que comprende aproximadamente 20 mM de un agente estabilizador; aproximadamente 120 mM de una sal farmacéuticamente aceptable; y aproximadamente 0.003% (p/p) de un tensioactivo no iónico. En determinadas modalidades, el agente estabilizador puede ser 25 L-histidina o citrato de sodio. En determinadas modalidades,

el agente estabilizador puede ser citrato de sodio. En determinadas modalidades, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser cloruro de sodio. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser Pluronic F-68. En determinadas modalidades, el tensioactivo no iónico puede ser PS80 y Pluronic F-68.

Componentes adicionales

En modalidades ejemplares, las composiciones de la presente descripción comprenden ingredientes farmacéuticamente aceptables adicionales. En aspectos ejemplares, las composiciones comprenden uno cualquiera o una combinación de los siguientes: agentes acidificantes, aditivos, adsorbentes, propelentes de aerosoles, agentes de desplazamiento de aire, agentes alcalinizantes, agentes antiaglomerantes, anticoagulantes, conservadores antimicrobianos, antioxidantes, antisépticos, bases, aglutinantes, agentes amortiguadores, agentes quelantes, agentes de recubrimiento, agentes colorantes, desecantes, detergentes, diluyentes, desinfectantes, desintegrantes, agentes dispersantes, agentes potenciadores de la disolución, tintes, emolientes, agentes emulsionantes, estabilizadores de emulsión, cargas, agentes formadores de películas, potenciadores del sabor, agentes aromatizantes, mejoradores del flujo, agentes gelificantes, agentes granulantes, humectantes, lubricantes, mucoadhesivos,

bases para ungüentos, ungüentos, vehículos oleaginosos, bases orgánicas, bases para pastilla, pigmentos, plastificantes, agentes abrillantadores, conservadores, agentes secuestrantes, penetrantes cutáneos, agentes solubilizantes, solventes, 5 agentes estabilizadores, bases para supositorios, agentes activos de superficie, tensioactivos, agente de suspensión, agentes edulcorantes, agentes terapéuticos, agentes espesantes, agentes de tonicidad, agentes de toxicidad, agentes que aumentan la viscosidad, agentes absorbentes de agua, 10 codisolventes miscibles en agua, suavizantes de agua o agentes humectantes. En algunas modalidades, las composiciones de la presente descripción comprenden uno cualquiera o una combinación de los siguientes componentes: goma arábiga, acesulfame de potasio, citrato de acetiltributilo, citrato de 15 acetiltriethyl, agar, albúmina, alcohol, alcohol deshidratado, alcohol desnaturalizado, alcohol diluido, ácido aleurítico, ácido algínico, poliésteres alifáticos, alúmina, hidróxido de aluminio, estearato de aluminio, amilopectina, α -amilosa, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, aspartame, agua 20 bacteriostática para inyección, bentonita, bentonita magma, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, ácido benzoico, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, bronopol, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, butilparabeno, butilparabeno sódico, alginato de calcio, 25 ascorbato de calcio, carbonato de calcio, ciclamato de calcio,

fosfato de calcio dibásico anhidro, fosfato de calcio dibásico deshidratado, fosfato de calcio tribásico, propionato de calcio, silicato de calcio, silicato de calcio tribásico, estearato de calcio, sulfato de calcio, sulfato de calcio hemihidratado, aceite de canola, carbómero, dióxido de carbono, 5 carboximetilcelulosa cálcica, carboximetilcelulosa sódica, β -caroteno, carragenano, aceite de ricino, aceite de ricino hidrogenado, cera emulsionante catiónica, acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa, etilcelulosa, celulosa 10 microcristalina, celulosa en polvo, celulosa microcristalina silicificada, carboximetilcelulosa de sodio, alcohol cetoestearílico, cetrimida, alcohol cetílico, clorhexidina, clorobutanol, clorocresol, colesterol, acetato de clorhexidina, gluconato de clorhexidina, clorhidrato de 15 clorhexidina, clorodifluoroetano (HCFC), clorodifluoroetano, clorodifluorometano, clorofluorocarburos (CFC), clorofenoxietanol, clorhexinol, sólidos de jarabe, ácido cítrico anhidro, ácido cítrico monohidrato, manteca de cacao, agentes colorantes, aceite de maíz, aceite de semilla de 20 algodón, cresol, m-cresol, o-cresol, p-cresol, croscarmelosa sódica, crospovidona, ácido ciclámico, ciclodextrinas, dextratos, dextrina, dextrosa, dextrosa anhidra, diazolidinil-urea, ftalato de dibutilo, sebacato de dibutilo, dietanolamina, ftalato de dietilo, difluoroetano (HFC), dimetil- β - 25 ciclodextrina, compuestos de tipo ciclodextrina tales como

Captisol®, dimetiléter, ftalato de dimetilo, edentato de
 dipotasio, edentato de disodio, hidrogenofosfato de disodio,
 docusato de calcio, docusato de potasio, docusato de sodio,
 galato de dodecilo, bromuro de dodeciltrimetilamonio, edentato
 5 de calcio disódico, ácido edético, eglumina, alcohol etílico,
 etilcelulosa, galato de etilo, laurato de etilo, etil-maltol,
 oleato de etilo, etilparabeno, etilparabeno de potasio,
 etilparabeno sódico, etil-vainillina, fructosa, fructosa
 líquida, fructosa molida, fructosa libre de pirógenos, fructosa
 10 en polvo, ácido fumárico, gelatina, glucosa, glucosa líquida,
 mezclas de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados,
 glicerina, behenato de glicerilo, monooleato de glicerilo,
 monoestearato de glicerilo, monoestearato de glicerilo
 autoemulsionante, palmitoestearato de glicerilo, glicina,
 15 glicoles, glicofurol, goma guar, heptafluoropropano (HFC),
 bromuro de hexadeciltrimetilamonio, jarabe de alta fructosa,
 albúmina de suero humano, hidrocarburos (HC), ácido clorhídrico
 diluido, aceite vegetal hidrogenado tipo II,
 hidroxietilcelulosa, 2-hidroxietil- β -ciclodextrina,
 20 hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilcelulosa de baja
 sustitución, 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina,
 hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de
 hidroxipropilmetilcelulosa, imidurea, índigo carmín,
 intercambiadores de iones, óxidos de hierro, alcohol
 25 isopropílico, miristato de isopropilo, palmitato de

isopropilo, solución salina isotónica, caolín, ácido láctico, lactitol, lactosa, lanolina, alcoholes de lanolina, lanolina anhidra, lecitina, silicato de magnesio y aluminio, carbonato de magnesio, carbonato de magnesio normal, carbonato de magnesio anhidro, hidróxido de carbonato de magnesio, hidróxido de magnesio, lauril-sulfato de magnesio, óxido de magnesio, silicato de magnesio, estearato de magnesio, trisilicato de magnesio, trisilicato de magnesio anhidro, ácido málico, malta, maltitol, solución de maltitol, maltodextrina, maltol, maltosa, manitol, triglicéridos de cadena media, meglumina, mentol, metilcelulosa, metacrilato de metilo, oleato de metilo, metilparabeno, metilparabeno potásico, metilparabeno sódico, celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica, aceite mineral, aceite mineral ligero, aceite mineral y alcoholes de lanolina, aceite, aceite de oliva, monoetanolamina, montmorillonita, galato de octilo, ácido oleico, ácido palmítico, parafina, aceite de cacahuete, petrolato, petrolato y alcoholes de lanolina, esmalte farmacéutico, fenol, fenol licuado, fenoxietanol, fenoxipropanol, alcohol feniletílico, acetato fenilmercúrico, borato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, polacrilina, polacrilina de potasio, poloxámero, polidextrosa, polietilenglicol, óxido de polietileno, poliacrilatos, polímeros en bloque de polietileno-polioxipropileno, polimetacrilatos, éteres de alquilo de polioxietileno, derivados del aceite de ricino

polioxietilenado, ésteres de ácidos grasos de polioxietilen-sorbitol, estearatos de polioxietileno, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, alginato de potasio, benzoato de potasio, bicarbonato de potasio , bisulfito de potasio, cloruro de potasio, citrato de potasio, citrato de potasio anhidro, hidrogenofosfato de potasio, metabisulfito de potasio, fosfato de potasio monobásico, propionato de potasio, sorbato de potasio, povidona, propanol, ácido propiónico, carbonato de propileno, propilenglicol, alginato de propilenglicol, galato de propilo, propilparabeno, propilparabeno potásico, propilparabeno sódico, sulfato de protamina, aceite de colza, solución de Ringer, sacarina, sacarina amónica, sacarina cálcica, sacarina sódica, aceite de cártamo, saponita, proteínas séricas, aceite de ajonjolí, sílice coloidal, dióxido de silicio coloidal, alginato de sodio, ascorbato de sodio, benzoato de sodio, bicarbonato de sodio, bisulfito de sodio, cloruro de sodio, citrato de sodio anhidro, citrato de sodio deshidratado, cloruro de sodio, ciclamato de sodio, edentato de sodio, dodecilsulfato de sodio, laurilsulfato de sodio, metabisulfito de sodio, fosfato de sodio dibásico, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio tribásico, propionato de sodio anhidro, propionato de sodio, sorbato de sodio, glicolato de almidón de sodio, estearilfumarato de sodio, sulfito de sodio, ácido sórbico, ésteres de sorbitán (ésteres grasos de sorbitán), sorbitol, solución de sorbitol al 70%, aceite de

soja, cera de espermaceti, almidón, almidón de maíz, almidón de papa, almidón pregelatinizado, almidón de maíz esterilizable, ácido esteárico, ácido esteárico purificado, alcohol estearílico, sacarosa, azúcares, azúcar comprimible, 5 azúcar de repostería, esferas de azúcar, azúcar invertido, Sugartab, Sunset Yellow FCF, parafina sintética, talco, ácido tartárico, tartrazina, tetrafluoroetano (HFC), aceite de teobroma, timerosal, dióxido de titanio, alfa-tocoferol, acetato de tocoferilo, succinato de alfa-tocoferilo ácido, 10 beta-tocoferol, delta-tocoferol, gamma-tocoferol, tragacanto, triacetina, citrato de tributilo, trietanolamina, citrato de trietilo, trimetil- β -ciclodextrina, bromuro de trimetiltetradecilamonio, amortiguador tris, edentado trisódico, vainillina, aceite vegetal hidrogenado tipo I, agua, 15 agua blanda, agua dura, agua libre de dióxido de carbono, agua libre de pirógenos, agua para inyección, agua esterilizada para inhalación, agua esterilizada para inyección, agua esterilizada para irrigación, ceras, cera emulsionante aniónica, cera de carnauba, cera emulsionante catiónica, cera 20 de éster cetílico, cera microcristalina, emulsionante no iónica cera, cera para supositorios, cera blanca, cera amarilla, vaselina blanca, grasa de lana, goma de xantano, xilitol, zeína, propionato de zinc, sales de zinc, estearato de zinc o cualquier excipiente en la *Handbook of Pharmaceutical* 25 *Excipients*, tercera edición, A. H. Kibbe (Pharmaceutical Press,

Londres, Reino Unido, 2000), que se incorpora como referencia en su totalidad. Remington's Pharmaceutical Sciences, decimosexta edición, EW Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980), que se incorpora como referencia en su totalidad para todos los propósitos previstos, describe varios componentes usados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida en que cualquier agente convencional sea incompatible con las composiciones farmacéuticas, se contempla su uso en composiciones farmacéuticas. En modalidades ejemplares, las composiciones de la presente descripción no comprenden uno o una combinación de los ingredientes anteriores. En modalidades ejemplares, las composiciones de la presente descripción no comprenden ninguno de estos ingredientes. En aspectos ejemplares, la composición farmacéutica de la presente descripción no comprende dextrano. En aspectos ejemplares, la composición farmacéutica de la presente descripción no comprende cloruro de calcio.

pH

En modalidades ejemplares, la composición de la presente descripción tiene un pH fisiológicamente compatible. Por consiguiente, en determinadas modalidades, se proporcionan composiciones virales (por ejemplo, AAV) que contienen un excipiente adecuado para mantener la composición a un pH

neutro.

En aspectos ejemplares, el pH de la composición puede ser de aproximadamente 6.5 a aproximadamente 9.0, de aproximadamente 6.5 a aproximadamente 8.0, de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7 o de aproximadamente 7.0 a aproximadamente 7.5. En determinadas modalidades, el pH de la composición puede ser aproximadamente 6.5 o aproximadamente 6.6, aproximadamente 6.7, aproximadamente 6.8, aproximadamente 6.9, aproximadamente 7.0, aproximadamente 7.1, aproximadamente 7.2, aproximadamente 7.3, aproximadamente 7.4, aproximadamente 7.5, aproximadamente 7.6, aproximadamente 7.7, aproximadamente 7.8, aproximadamente 7.9, aproximadamente 8.0, aproximadamente 8.1, aproximadamente 8.2, aproximadamente 8.3, aproximadamente 8.4, aproximadamente 8.5, aproximadamente 8.6, aproximadamente 8.7, aproximadamente 8.8, aproximadamente 8.9 o aproximadamente 9.0. En aspectos ejemplares, el pH de la composición puede ser de aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4. En determinadas modalidades, el pH de la composición puede ser de aproximadamente 7.0. En determinadas modalidades, el pH de la composición puede ser de aproximadamente 7.4.

Osmolalidad

En modalidades ejemplares, la composición de la presente descripción tiene una osmolalidad de aproximadamente 200 a aproximadamente 400 mOsmol/kg, aproximadamente 250 a aproximadamente 400 mOsmol/kg o aproximadamente 290 a

aproximadamente 390 mOsmol/kg. En determinadas modalidades, una composición viral (por ejemplo, AAV) proporcionada en este documento tendrá una osmolalidad, por ejemplo, de aproximadamente 200 mOsmol/L, aproximadamente 210 mOsmol/L, aproximadamente 220 mOsmol/L, aproximadamente 230 mOsmol/L, aproximadamente 240 mOsmol/L, aproximadamente 250 mOsmol/L, aproximadamente 260 mOsmol/L, aproximadamente 270 mOsmol/L, aproximadamente 280 mOsmol/L, aproximadamente 290 mOsmol/L, aproximadamente 300 mOsmol/L, aproximadamente 310 mOsmol/L, aproximadamente 320 mOsmol/L, aproximadamente 330 mOsmol/L, aproximadamente 340 mOsmol/L, aproximadamente 350 mOsmol/L, aproximadamente 360 mOsmol/L, aproximadamente 370 mOsmol/L, aproximadamente 380 mOsmol/L, aproximadamente 390 mOsmol/L o aproximadamente 400 mOsmol/L. En aspectos ejemplares, la composición de la presente descripción tiene una osmolalidad de aproximadamente 250 mOsmol/kg a aproximadamente 350 mOsmol/kg. En aspectos ejemplares, la composición de la presente descripción tiene una osmolalidad de aproximadamente 259 mOsmol/kg, aproximadamente 305 mOsmol/kg, aproximadamente 320 mOsmol/kg o aproximadamente 347 mOsmol/kg.

Los ejemplos de agentes tonificantes que se pueden usar en las composiciones proporcionadas en este documento incluyen, sin limitación, cloruro de sodio, dextrosa, sacarosa, xilitol, fructosa, glicerol, sorbitol, manitol, trehalosa, cloruro de potasio, manosa, cloruro de calcio, cloruro de

magnesio, otras sales inorgánicas, otros azúcares, otros alcoholes de azúcar y combinaciones de los mismos. En determinadas modalidades, una composición viral (por ejemplo, AAV) puede comprender al menos un agente de tonicidad, o al
5 menos dos, tres, cuatro, cinco o más agentes de tonicidad.

AAV

En modalidades ejemplares, la composición de la presente descripción comprende AAV. El AAV puede ser de cualquier serotipo de AAV. En aspectos ejemplares, el AAV puede
10 ser de serotipo AAV1, serotipo AAV2, serotipo AAV3, serotipo AAV4, serotipo AAV5, serotipo AAV6, serotipo AAV7, serotipo AAV8, serotipo AAV9 o serotipo AAV10 o una combinación de los mismos. En aspectos ejemplares, el AAV puede ser del serotipo AAV8. En aspectos ejemplares, el AAV puede ser del serotipo
15 AAV9. En aspectos ejemplares, el AAV puede ser del serotipo AAV6.

En determinadas modalidades, el AAV puede modificarse genética y/o químicamente. En determinadas modalidades, el AAV puede modificarse genéticamente. En determinadas modalidades,
20 el AAV puede modificarse químicamente.

En determinadas modalidades, el AAV se ha modificado genéticamente para crear vectores de AAV con uso de receptor alterado, antigenicidad, eficacia de transducción y/o tropismo tisular para la aplicación de terapia génica. En determinadas
25 modalidades, el AAV puede modificarse genéticamente para

insertar ligandos peptídicos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, MHC y/o receptores en la cápside viral. En determinadas modalidades, el AAV puede modificarse genéticamente para insertar péptidos para marcar la cápside viral. Se pueden encontrar ejemplos no limitantes de posibles modificaciones en Büning H., Bolyard C.M., Hallek M., Bartlett J.S. (2012) Modifying and Labeling of AAV Vector Particles. En: Snyder R., Moullier P. (eds) Adeno-Associated Virus. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), vol 807. Humana Press, que se incorpora aquí en su totalidad para todos los propósitos previstos.

En determinadas modalidades, los AAV se han modificado químicamente para alterar el tropismo tisular del vector de AAV. Por ejemplo, las reacciones quimiosselectivas que pueden dirigirse a cadenas laterales de aminoácidos específicas pueden explotarse para alterar la carga, la polaridad, la hidrofobicidad y el potencial de enlace de hidrógeno dentro de los dominios de unión al receptor en las cápsides de AAV. Tal capacidad para alterar la composición de receptores específicos en la superficie de la cápside de AAV permite la generación de vectores sintéticos con tropismo tisular alterado. En determinadas modalidades, los vectores de AAV químicamente modificados pueden presentar alteraciones en el uso del receptor, antigenicidad, eficacia de transducción y/o tropismo tisular de los vectores de AAV químicamente

modificados. Se pueden encontrar ejemplos no limitantes de posibles modificaciones en Büning H., Bolyard C.M., Hallek M., Bartlett J.S. (2012) Modifying and Labeling of AAV Vector Particles. En: Snyder R., Moullier P. (eds) Adeno-Associated Virus. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), vol 807. Humana Press, que se incorpora aquí en su totalidad para todos los propósitos previstos.

En determinadas modalidades de las composiciones proporcionadas en este documento, el AAV puede ser un rAAV como se describe en la publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos de América No. 2017/0233455 y la solicitud provisional No. 62/509,616, que se incorporan aquí como referencia en su totalidad y para todos los propósitos.

En aspectos ejemplares, la composición comprende un producto de AAV de alto título. En aspectos ejemplares, la composición comprende al menos aproximadamente 10^{10} partículas de la cápside (cp) o al menos aproximadamente 10^{11} partículas de la cápside (cp) o al menos aproximadamente 10^{12} partículas de la cápside (cp) o al menos aproximadamente 10^{13} partículas de la cápside (cp). En aspectos ejemplares, la composición comprende al menos aproximadamente 10^{14} partículas de la cápside (cp) o al menos aproximadamente 10^{15} partículas de la cápside (cp), por ejemplo, al menos aproximadamente 2×10^{15} partículas de la cápside (cp), al menos aproximadamente 5×10^{15} partículas de la cápside (cp). En determinadas modalidades, el término

partículas de la cápside (cp) se puede usar de forma intercambiable con el término partículas de vector. En determinadas modalidades, cp se usa junto con el análisis de ELISA. En determinadas modalidades, vg se usa junto con el análisis de qPCR. La composición comprende también aproximadamente 10^{10} genomas de vector (vg) o al menos aproximadamente 10^{11} genomas de vector (vg) o al menos aproximadamente 10^{12} genomas de vector (vg) o al menos aproximadamente 10^{13} genomas de vector (vg). En aspectos ejemplares, la composición comprende al menos aproximadamente 10^{14} genomas vectoriales (vg) o al menos aproximadamente 10^{15} genomas vectoriales (vg), por ejemplo, al menos aproximadamente 2×10^{15} genomas vectoriales (vg), al menos aproximadamente 5×10^{15} genomas vectoriales (vg).

Aunque esta solicitud ejemplifica específicamente los vectores de AAV, estas mismas composiciones se pueden usar con otros vectores virales. Los ejemplos no limitantes de virus de los que se pueden derivar las partículas virales descritas en este documento incluyen, por ejemplo, retrovirus (por ejemplo, virus del sarcoma de Rous, virus de la leucemia de células T humana y bovina (HTLV y BLV)), lentivirus (por ejemplo, virus de inmunodeficiencia humana y de simios (VIH y VIS), virus del mono Mason-Pfizer), virus espumosos (por ejemplo, virus espumoso humano (HFV, por sus siglas en inglés)), virus del herpes (virus del herpes simple (HSV, por

sus siglas en inglés), virus de la varicela-zoster, VZVEBV, HCMV, HHV), hantavirus, poxvirus (p. ej., poxvirus de vertebrados y aves, virus de la vaccinia), ortomixovirus (por ejemplo, virus de influenza A, influenza B, influenza C),
 5 paramixovirus (por ejemplo, virus de parainfluenza, virus respiratorio sincitial, virus Sendai, virus de las paperas, virus del sarampión y similar al sarampión), rabdovirus (por ejemplo, virus de la estomatitis vesicular, virus de la rubéola, virus de la rabia), coronavirus (por ejemplo, SARS,
 10 MERS), flavivirus (por ejemplo, virus de Marburg, virus de Reston, virus del Ébola), alfavirus (por ejemplo, virus Sindbis), bunyavirus, arenavirus (por ejemplo, LCMV, GTOV, JUNV, LASV, LUJV, MACV, SABV, WWAV), iridovirus y hepadnavirus.

Métodos de Fabricación y Usos

15 Los métodos para preparar una composición que comprende virus (por ejemplo, AAV) se proporcionan adicionalmente en este documento. En determinadas modalidades, las composiciones son acuosas. En determinadas modalidades, las composiciones se liofilizan. Los ejemplos siguientes son
 20 para AAV, pero también se pueden usar otros vectores virales.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar un agente estabilizador, un tensioactivo no iónico, un azúcar, alcohol de azúcar o una combinación de los mismos, disolvente y opcionalmente una sal farmacéuticamente
 25 aceptable, de manera que la concentración final sea

aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de agente estabilizador, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de sal farmacéuticamente aceptable, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de tensioactivo no iónico, 5 aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM de azúcar, alcohol de azúcar, o una combinación de los mismos (los intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) la adición de partículas de AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas 10 modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o 15 aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar L-histidina, Polisorbatu 80 (PS80), sacarosa y/o glucosa, agua y opcionalmente cloruro de sodio de manera que la concentración final sea de aproximadamente 0.5 mM a 20 aproximadamente 30 mM de L-histidina, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80) y aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM de sacarosa y/o glucosa (intervalos adicionales se describen con 25 más detalle anteriormente) y b) añadir partículas de AAV,

obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar L-histidina, Polisorbatu 80 (PS80), sacarosa y/o glucosa, cloruro de sodio y agua de manera que la concentración final sea de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM de L-histidina, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80), aproximadamente 0.1 mM a aproximadamente 20 mM de sacarosa y/o glucosa (intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) añadir partículas de AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a)

combinar un agente estabilizador, un tensioactivo no iónico, un disolvente y, opcionalmente, una sal farmacéuticamente aceptable de modo que la concentración final sea de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM de agente estabilizador, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de sal farmacéuticamente aceptable, y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de tensioactivo no iónico (intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) adición de partículas de AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar L-histidina, Polisorbatu 80 (PS80), agua y, opcionalmente, cloruro de sodio de manera que la concentración final sea de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM de L-histidina, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de cloruro de sodio, y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80) (los intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) la adición de partículas de AAV, obteniendo

así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las partículas de AAV que contienen soluciones se dializan en la composición final. En determinadas
5 modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar L-histidina, Polisorbatu 80 (PS80), agua y,
10 opcionalmente, cloruro de sodio de manera que la concentración final sea de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 75 mM de L-histidina, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM de cloruro de sodio, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.005% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80) (los
15 intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente), y b) agregar AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en
20 la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a)
25 combinar un agente estabilizador, un tensioactivo no iónico,

un disolvente y, opcionalmente, una sal farmacéuticamente aceptable de modo que la concentración final sea de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de agente estabilizador, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de sal farmacéuticamente aceptable, y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de tensioactivo no iónico (intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) adición de partículas de AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar citrato de sodio, Polisorbatu 80 (PS80), agua y, opcionalmente, cloruro de sodio de manera que la concentración final sea de aproximadamente 0.5 mM a aproximadamente 30 mM de citrato de sodio, aproximadamente 0 mM a aproximadamente Cloruro de sodio 250 mM, y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80) (intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) agregar partículas de AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades,

las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las partículas de AAV que contienen soluciones se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a
5 aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar citrato de sodio, Polisorbatu 80 (PS80), agua y cloruro de sodio de manera que la concentración final sea de
10 aproximadamente 1 mM a aproximadamente 30 mM de citrato de sodio, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 cloruro de sodio mM, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80) (se describen intervalos adicionales con más detalle anteriormente) y b) agregar AAV,
15 obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9
20 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar un agente estabilizador, un tensioactivo no iónico, un disolvente y, opcionalmente, una sal farmacéuticamente
25 aceptable de modo que la concentración final sea de

aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM de agente estabilizador, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 mM de sal farmacéuticamente aceptable, y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de tensioactivo no iónico (intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) adición de partículas de AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar bicarbonato de sodio, Polisorbatu 80 (PS80), agua y opcionalmente cloruro de sodio de manera que la concentración final sea de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM de bicarbonato de sodio, aproximadamente 0 mM a aproximadamente 250 cloruro de sodio mM, y aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80) (los intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) agregar partículas de AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV . En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican. En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se

dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

5 En aspectos ejemplares, el método comprende: a) combinar bicarbonato de sodio, Polisorbatu 80 (PS80), agua y cloruro de sodio de manera que la concentración final sea de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM de bicarbonato de sodio, aproximadamente 100 mM a aproximadamente 250 mM cloruro
10 de sodio, aproximadamente 0.0001% (p/p) a aproximadamente 0.01% (p/p) de Polisorbatu 80 (PS80) (los intervalos adicionales se describen con más detalle anteriormente) y b) agregar AAV, obteniendo así una composición que comprende AAV. En determinadas modalidades, las partículas de AAV se purifican.
15 En determinadas modalidades, las soluciones que contienen AAV se dializan en la composición final. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.9 a aproximadamente 7.7, opcionalmente, aproximadamente 7.0 o aproximadamente 7.4.

20 Se pueden encontrar ejemplos no limitantes de AAV purificador en, por ejemplo, WO2018128688 y la publicación de PCT/US2018/067627.

 Las modalidades del método para preparar la composición de AAV liofilizada también pueden incluir la
25 producción de la composición de concentrado acuoso, que puede

liofilizarse posteriormente.

En algunas modalidades, la liofilización también puede incluir aumentar la temperatura de la composición mientras se reduce la presión que rodea a la composición. Por ejemplo, la temperatura de la composición puede aumentarse desde una temperatura mínima como se describe anteriormente a una temperatura mayor que la temperatura mínima. En algunos casos, se aumenta la temperatura para facilitar la sublimación del agua en la composición a la presión circundante reducida.

10 Proporcionar la composición en un recipiente puede facilitar el mantenimiento de la composición como una composición estéril. Por ejemplo, el recipiente puede configurarse para mantener la composición encerrada en el recipiente en un entorno estéril. Como tal, el recipiente puede ser un recipiente sellado, por ejemplo, el recipiente puede 15 incluir un sello, tal como un sello hermético al agua y/o al aire. El sello se puede quitar del recipiente para permitir que un usuario acceda al contenido del recipiente. En algunos casos, el sello puede ser un sello frangible, o en otros casos, 20 el sello puede configurarse para permitir la inserción de una aguja, cánula o jeringa en el interior del recipiente sin quitar el sello del recipiente. En algunos casos, un sello configurado para permitir el acceso al interior del recipiente sin quitar el sello del recipiente puede facilitar el 25 mantenimiento del contenido del recipiente (por ejemplo, la

composición en el recipiente) en un ambiente estéril antes de la administración de la composición a un sujeto. Los materiales adecuados para el sello incluyen, por ejemplo, sellos de caucho o polímero, tales como, pero sin limitarse a, caucho de
5 silicona, caucho natural, caucho de estireno-butadieno, copolímeros de etileno-propileno, policloropreno, poliacrilato, polibutadieno, poliuretano, estireno-butadieno y similares, y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sello puede ser un septo
10 perforable con una aguja, jeringa o cánula. El sello también puede proporcionar un acceso conveniente a una muestra en el recipiente, así como una barrera protectora que se superpone a la abertura del recipiente. En algunos casos, el sello puede ser un sello removible, como una tapa roscada o a presión u
15 otro elemento de sellado adecuado que se puede aplicar a la abertura del recipiente. Por ejemplo, se puede enroscar una tapa roscada sobre la abertura antes o después de que se haya agregado una muestra al recipiente.

En algunos casos, el recipiente puede ser un
20 recipiente de dosis unitaria. Un recipiente de dosis unitaria se refiere a un recipiente que contiene una o más dosis unitarias para la administración a un sujeto. En algunas modalidades, un recipiente de dosis unitaria incluye una cantidad predeterminada de una composición objetivo calculada
25 en una cantidad suficiente para producir un efecto deseado en

un sujeto. Ciertas modalidades de las composiciones pueden proporcionarse en un recipiente de dosis unitaria adecuado para la administración individual de dosis precisas. La cantidad de composición activa administrada a un sujeto puede depender del sujeto que se esté tratando, la gravedad de la afección y la forma de administración. Por ejemplo, el recipiente de dosis unitaria puede contener una cantidad de la composición que se va a administrar como se describe en el presente documento, en una cantidad eficaz para lograr el efecto deseado en el sujeto que se está tratando. En ciertos casos, un recipiente de dosis unitaria incluye una composición que tiene partículas de AAV en una cantidad terapéuticamente eficaz. En determinadas modalidades, el recipiente de dosis unitaria puede ser un vial. En algunos casos, el vial puede ser un vial sellado (por ejemplo, como se describe anteriormente con respecto a un recipiente sellado).

El recipiente puede estar compuesto por cualquier material conveniente que pueda ser compatible con el AAV y otros componentes de la composición. Por ejemplo, el recipiente puede ser un recipiente compatible con sólidos, configurado para contener un sólido (por ejemplo, una composición liofilizada). En algunos casos, el recipiente puede ser un recipiente compatible con líquidos, configurado para contener un líquido. Los recipientes también pueden ser compatibles con sólidos y líquidos, donde el recipiente puede configurarse para

contener sólidos y líquidos. En algunos casos, un líquido en el recipiente puede ser un líquido acuoso y, en estos casos, el recipiente puede ser compatible con composiciones acuosas. Por "compatible" se entiende que el recipiente es

5 sustancialmente inerte (por ejemplo, no reacciona significativamente con) el líquido y/o composiciones u otros componentes en contacto con el recipiente. Los ejemplos de materiales de recipiente adecuados incluyen, pero no se limitan a, vidrio y plástico. Por ejemplo, el recipiente puede estar

10 compuesto de vidrio, tal como, pero sin limitarse a, vidrio de silicato, vidrio de borosilicato, vidrio de borosilicato de sodio (por ejemplo, PYREX™), vidrio de cuarzo fundido, vidrio de sílice fundido y similares. Otros ejemplos de materiales de recipiente adecuados para el recipiente incluyen plásticos,

15 tales como, entre otros, polipropileno, polimetilpenteno, politetrafluoroetileno (PTFE), perfluoroéteres (PFE), etileno-propileno fluorado (FEP), perfluoroalcoxi-alcanos (PFA), tereftalato de polietileno (PET), polietileno (PE), polieteretercetona (PEEK), poliestireno y similares. En

20 ciertos casos, como se describió anteriormente, el recipiente puede ser un vial y, como tal, puede ser un vial de vidrio. Como se describió anteriormente, el recipiente puede ser un recipiente sellado y, como tal, puede ser un vial de vidrio sellado.

25 En aspectos ejemplares, el volumen de la composición

que comprende AAV colocado en el recipiente de vidrio o plástico puede ser de aproximadamente 0.1 ml a aproximadamente 10 ml, de aproximadamente 0.1 ml a aproximadamente 5 ml, de aproximadamente 0.2 ml a aproximadamente 6 ml, de aproximadamente 0.2 ml a aproximadamente 5 ml, aproximadamente 0.25 ml a aproximadamente 5 ml, aproximadamente 2 ml a aproximadamente 5 ml, aproximadamente 2.5 ml a aproximadamente 5 ml, aproximadamente 3 ml a aproximadamente 5 ml, aproximadamente 4 ml a aproximadamente 5 ml, aproximadamente 5 ml a aproximadamente 10 ml, aproximadamente 6 ml aproximadamente 9 ml o aproximadamente 7 ml hasta aproximadamente 8 ml. En aspectos ejemplares, el volumen es aproximadamente 0.1 ml aproximadamente 0.2 ml, aproximadamente 0.25 ml, aproximadamente 0.3 ml, aproximadamente 0.4 aproximadamente 0.5 ml, aproximadamente 0.6 ml, aproximadamente 0.7 ml. aproximadamente 0.75 ml, aproximadamente 0.8 ml, aproximadamente 0.9 ml, aproximadamente 1 ml, aproximadamente 2 ml, aproximadamente 2.5 ml, aproximadamente 3 ml, aproximadamente 4 ml, aproximadamente 5 ml, aproximadamente 5,5 ml, aproximadamente 5.6 ml, aproximadamente 6 ml, aproximadamente 7 ml, aproximadamente 7.5 ml, aproximadamente 8 ml, aproximadamente 9 ml o aproximadamente 10 ml.

En aspectos ejemplares, la composición que comprende AAV se puede almacenar a una temperatura de aproximadamente

-80 °C a aproximadamente -10 °C durante al menos 1 mes (por ejemplo, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses). En aspectos ejemplares, la composición que comprende AAV se puede almacenar a una temperatura de aproximadamente -60 °C a aproximadamente -20 °C durante al menos 1 mes (por ejemplo, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses). En aspectos ejemplares, la composición que comprende AAV puede almacenarse durante 3, 4, 5 o 6 meses o más. Los métodos para almacenar la composición se describen en este documento (véanse, por ejemplo, los Ejemplos 1 a 3). En aspectos ejemplares, más del 80% de la cantidad inicial de AAV (por ejemplo, la cantidad de AAV en la composición antes del almacenamiento) puede ser potente después del período de almacenamiento (por ejemplo, un período de almacenamiento de aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, o aproximadamente 6 meses o más). En aspectos ejemplares, más del 90% de la cantidad inicial de AAV puede ser potente después del período de almacenamiento (por ejemplo, un período de almacenamiento de aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses o aproximadamente 6 meses o más). En aspectos ejemplares, más del 95% de la cantidad inicial de AAV puede ser potente después del período de almacenamiento (por ejemplo, un período de almacenamiento de aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4

meses, aproximadamente 5 meses o aproximadamente 6 meses o más). En aspectos ejemplares, la biopotencia del AAV al final del período de almacenamiento puede ser sustancialmente la misma que la biopotencia del AAV al comienzo del período de almacenamiento. En aspectos ejemplares, la biopotencia del AAV al final del período de almacenamiento puede incrementarse en relación con la biopotencia del AAV al comienzo del período de almacenamiento. En aspectos ejemplares, el aspecto de la composición al final del período de almacenamiento puede ser sustancialmente el mismo que el de la composición al comienzo del período de almacenamiento. En aspectos ejemplares, el aspecto de la composición al final del período de almacenamiento se puede caracterizar por no tener partículas visibles. En aspectos ejemplares, la concentración de partículas de la composición al final del período de almacenamiento puede ser sustancialmente la misma que la concentración de partículas de la composición al comienzo del período de almacenamiento. En aspectos ejemplares, la concentración de partículas de la composición al final del período de almacenamiento se puede determinar mediante formación de imágenes de microflujo (MFI).

La presente descripción proporciona métodos para tratar a un sujeto de un trastorno que se puede tratar mediante terapia génica. En aspectos ejemplares, el método comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica como se

describe en el presente documento en una cantidad eficaz para tratar una enfermedad o trastorno, y el método comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de la presente descripción en una cantidad eficaz para tratar la
5 enfermedad o trastorno.

En aspectos ejemplares, la enfermedad o trastorno puede ser un trastorno neurológico o neurodegenerativo (por ejemplo, esclerosis múltiple ("MS"), neurodegeneración relacionada con el SIDA y enfermedad de Alzheimer, meningitis
10 infecciosa, encefalomiелitis, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Hunter, Ataxia de Friedrich, ataxia espinocerebelosa, esclerosis lateral amiotrófica, encefalitis, enfermedad priónica, enfermedad de la neurona motora o atrofia muscular espinal) y el método
15 comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de la presente descripción en una cantidad eficaz para tratar el trastorno neurodegenerativo. En determinadas modalidades, el trastorno neurológico o neurodegenerativo es una enfermedad o trastorno que afecta a las neuronas. En determinadas
20 modalidades, los trastornos neurológicos o neurodegenerativos dan como resultado una degeneración progresiva y/o muerte de neuronas. En determinadas modalidades, el trastorno neurológico o neurodegenerativo puede ser causado por, por ejemplo, pesticidas, fungicidas, insecticidas, metales (por
25 ejemplo, arsénico, plomo, manganeso), productos químicos

usados en la industria o productos de consumo (por ejemplo, bifenilos policlorados (PCB) y éteres de difenilo polibromados (PBDEs)), contaminación del aire y/o agua, factores biológicos (por ejemplo, endotoxinas producidas por bacterias) y/o
5 factores dietéticos y de estilo de vida (por ejemplo, cafeína, humo de tabaco, antioxidantes dietéticos).

En aspectos ejemplares, la enfermedad o trastorno puede ser una enfermedad ocular (por ejemplo, enfermedad vascular retiniana, degeneración de la retina o degeneración
10 de la córnea), y el método comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de la presente descripción en una cantidad eficaz para tratar el trastorno neurodegenerativo.

En aspectos ejemplares, la enfermedad o trastorno puede ser déficit de inhibidor de C1, hipertensión pulmonar,
15 enfermedad de Pompe, enfermedad de Fabry, enfermedad de Gaucher o deficiencia de alfa-1 anti-tripsina), y el método comprende administrar al sujeto un fármaco composición de la presente descripción en una cantidad eficaz para tratar el trastorno neurodegenerativo.

20 En aspectos ejemplares, la enfermedad o trastorno puede ser un trastorno hemorrágico (por ejemplo, hemofilia A, B o C, enfermedad de Von Willebrand (VWD, por sus siglas en inglés), deficiencias de factores tales como I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII y XIII) y el método comprende administrar
25 al sujeto una composición farmacéutica de la presente

descripción en una cantidad eficaz para tratar el trastorno hemorrágico. En determinadas modalidades, el trastorno hemorrágico puede heredarse. En determinadas modalidades, se puede adquirir el trastorno hemorrágico. En determinadas
5 modalidades, el trastorno hemorrágico puede ser causado por anemia, cirrosis del hígado, VIH, leucemia y deficiencia de vitamina K.

En aspectos ejemplares, los métodos comprenden administrar la composición farmacéutica mediante
10 administración parenteral. El término "parenteral" significa no a través del tubo digestivo sino por alguna otra vía. Por ejemplo, las composiciones descritas en el presente documento se pueden formular para la administración mediante métodos conocidos, tales como la administración intravenosa (por
15 ejemplo, como un bolo o mediante infusión (venoclisis) continua durante un período de tiempo), por vía intramuscular, intraperitoneal, intracerebroventricular, intracerebroespinal, subcutánea, intra-articular, intrasinovial, intratecal, intravítrea, intraparenquimal,
20 oral, tópica o inhalatoria. En determinadas modalidades, las composiciones de AAV proporcionadas en este documento se pueden administrar de forma sistémica o local. La administración sistémica incluye, sin limitación: vías de administración oral, subdérmica, intraperitoneal, subcutánea, transnasal,
25 sublingual o rectal. La administración local incluye, sin

limitación: vías de administración tópica, subcutánea, intramuscular e intraperitoneal. En determinadas modalidades, la vía de administración puede ser mediante inyección intracerebroventricular. En determinadas modalidades, la vía
5 de administración puede ser mediante inyección intraparenquimal.

Los métodos de administración de AAV para la terapia génica de un sujeto son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Monahan, Gene Therapy en una era de opciones de
10 tratamiento emergentes para la hemofilia B, J. Thromb Haemost. 2015 Jun; 13 (0 1): S151 - S160.

Las composiciones reconstituidas de la presente descripción se pueden administrar a un sujeto, por ejemplo, mediante inyección o por vía intravenosa. En estas modalidades,
15 antes de la administración de la composición reconstituida a un sujeto, se puede combinar una composición sólida, por ejemplo, como se describe anteriormente, con un líquido para proporcionar una composición líquida adecuada para la administración, por ejemplo, por inyección o por vía
20 intravenosa. En algunos casos, antes de la administración de la composición a un sujeto, se puede combinar una composición sólida con agua (por ejemplo, agua para inyección, WFI) o amortiguador/agente amortiguador para proporcionar una composición acuosa adecuada para la administración, por
25 ejemplo, mediante inyección o por vía intravenosa. Por ejemplo,

una composición liofilizada se puede reconstituir con agua (por ejemplo, agua para inyección, WFI) o amortiguador/agente amortiguador para producir una unidad de dosificación reconstituida adecuada para la administración a un sujeto, por ejemplo mediante inyección o por vía intravenosa.

En determinadas modalidades, la unidad de dosificación reconstituida tiene un pH compatible con las condiciones fisiológicas. En algunos casos, el pH de la unidad de dosificación reconstituida oscila entre 6 y 8. En algunos casos, el pH de la unidad de dosificación reconstituida oscila entre 7 y 8. Por ejemplo, el pH de la unidad de dosificación reconstituida puede oscilar entre 7 y 7.5. En algunos casos, el pH de la unidad de dosificación reconstituida puede ser de 7.0. En algunos casos, el pH de la unidad de dosificación reconstituida puede ser de 7.1. En algunos casos, el pH de la unidad de dosificación reconstituida puede ser de 7.2. En algunos casos, el pH de la unidad de dosificación reconstituida puede ser de 7.3. En algunos casos, el pH de la unidad de dosificación reconstituida puede ser de 7.4.

La unidad de dosificación reconstituida puede incluir una cantidad predeterminada de la composición de la presente descripción, calculada en una cantidad suficiente para producir un efecto terapéutico deseado en un sujeto. La cantidad de la composición en una unidad de dosificación reconstituida que se administra a un sujeto puede depender

del sujeto que se esté tratando, la gravedad de la afección y la forma de administración. Por ejemplo, la unidad de dosificación reconstituida puede incluir una cantidad de la composición a administrar como se describe en este documento
5 en una cantidad terapéuticamente eficaz.

Cuando se administra a un sujeto, la unidad de dosificación líquida o reconstituida puede incluir una cantidad terapéuticamente eficaz de AAV de manera que la unidad de dosificación reconstituida administra de $1E +10$
10 cp/ml a $5E +15$ cp/ml o $1E +10$ cp/ml a $5E +15$ cp/ml.

En determinadas modalidades, el método incluye administrar el líquido o la unidad de dosificación reconstituida al sujeto de acuerdo con un régimen de tratamiento. Por ejemplo, en algunos casos, un proveedor de
15 atención médica puede haber prescrito un régimen de tratamiento a un sujeto a tratar. En algunos casos, un régimen de tratamiento incluye, entre otros, la administración cinco veces al día, cuatro veces al día, tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, tres veces
20 a la semana, dos veces a la semana, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez al mes, una vez cada 5 semanas, una vez cada 6 semanas, una vez cada 7 semanas, una vez cada dos meses y cualquier combinación de los mismos.

25 En algunas modalidades, el régimen de tratamiento

incluye la administración de una o más dosis durante un período de tiempo prolongado. En ciertos casos, se puede administrar una dosis única (por ejemplo, una unidad de dosificación única) al sujeto, y la dosis inicial puede ir
5 seguida de una o más dosis administradas al sujeto en un momento posterior. En algunos casos, se puede administrar más de una dosis (por ejemplo, más de una unidad de dosificación) al sujeto, y las dosis iniciales pueden ir seguidas de una o más dosis administradas al sujeto en un
10 momento posterior. Por ejemplo, se puede administrar una dosis única (por ejemplo, una unidad de dosificación única) al sujeto, y la dosis única puede ir seguida de una dosis única administrada al sujeto en un momento posterior. Se pueden administrar dosis únicas adicionales en momentos
15 posteriores. En otros casos, se puede administrar una dosis única (por ejemplo, una unidad de dosificación única) al sujeto, y la dosis única puede ir seguida de dos dosis administradas al sujeto en un momento posterior. Se pueden administrar dosis únicas o múltiples adicionales en momentos
20 posteriores.

En determinadas modalidades, las unidades de dosificación reconstituidas de la presente descripción se pueden administrar antes, simultáneamente o después de otros agentes activos para tratar afecciones relacionadas o no
25 relacionadas, por ejemplo, en terapia de combinación.

Ejemplos de tales terapias adicionales incluyen terapias de radiación, terapias quirúrgicas y terapias quimioterapéuticas. Si se proporciona al mismo tiempo que otros agentes activos, las unidades de dosificación reconstituidas de la presente descripción se pueden proporcionar en la misma o en una composición diferente. Por ejemplo, se puede lograr una terapia concurrente administrando una unidad de dosificación reconstituida y una composición farmacéutica que tenga al menos otro agente activo, como un agente quimioterapéutico, que en combinación proporcionen una dosis terapéuticamente eficaz, de acuerdo con un régimen de tratamiento particular. La administración de composiciones farmacéuticas separadas se puede realizar simultáneamente o en diferentes momentos (por ejemplo, secuencialmente, en cualquier orden, el mismo día o en diferentes días), siempre que se produzca un efecto terapéuticamente eficaz de la combinación de estas sustancias en el sujeto sometido a terapia.

Por consiguiente, los aspectos de la presente descripción incluyen además terapias de combinación. En determinadas modalidades, el método objeto incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes activos adicionales. Por terapia de combinación se entiende que una composición de AAV (por ejemplo, como se describe en este documento) se puede usar en combinación

con otro agente terapéutico para tratar una sola enfermedad o afección. En determinadas modalidades, un compuesto de la presente descripción se administra simultáneamente con la administración de otro agente terapéutico, que puede administrarse como un componente de una composición que incluye el compuesto de la presente descripción o como un componente de una composición diferente. En determinadas modalidades, una composición que incluye un compuesto de la presente descripción se administra antes o después de la administración de otro agente terapéutico.

Los siguientes ejemplos se dan simplemente para ilustrar la presente invención y de ninguna manera para limitar su alcance.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

Este ejemplo se realizó para desarrollar composiciones para la administración intracerebroventricular (ICV), intravítrea (IV) así como intratecal (IT) de vectores AAV directamente en las investigaciones cerebrales. Se fabricaron siete formulaciones amortiguadoras diferentes para determinar cuál de las formulaciones amortiguadoras funciona mejor con los diferentes serotipos de AAV. Se usó una composición de referencia (PBS + 0.001% de Pluronic F-68; Formulación 5) como control para la comparación.

Tabla 1 - Formulación Amortiguadora 1

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	154 mM	9
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 2 - Formulación Amortiguadora 2

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	50 mM	7.76
NaCl	58.44	154 mM	9
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 3 - Formulación Amortiguadora 3

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	150 mM	8.77
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 4 - Formulación Amortiguadora 4

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	120 mM	7.01
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 5 - Formulación 5 (Referencia)

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Cloruro de sodio	58.44	136.9 mM	8
Cloruro de Potasio	74.55	2.68 mM	0.2
Fosfato ácido disódico - Dihidrato	177.99	8.09 mM	1.44
Dihidrogenofosfato monopotásico	136.09	1.47 mM	0.2
Pluronic F+68 ⁵	n.a.	0.001% (p/p)	0.01
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.4±0.1		

Tabla 6 - Formulación Amortiguadora 6

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	154 mM	9
Glucosa	180.16	5 mM	0.9

Croda super refinado			
Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

5

EJEMPLO 2

La estabilidad del material de terapia génica de AAV8 en cinco formulaciones amortiguadoras diferentes del Ejemplo 1 almacenadas en viales de vidrio de 10 ml de SiO₂ a +5 ± 3 °C durante hasta 4 meses (0, 1, 2 y 4 meses) y a ≤ -60 °C (punto de ajuste -80 °C) durante un máximo de 6 meses (1, 2, 3 y 6 meses). Para cada punto de tiempo, se colocaron 2.8 ml en viales de vidrio de SiO₂ separados de 10 ml para los meses 0, 1 mes (≤ -60 °C), 4 meses (+5 ± 3 °C) y 6 meses (≤ -60 °C), y para todos los demás puntos de tiempo se usaron 2.2 ml. Este estudio se realizó con material de terapia génica de AAV8 filtrado estéril y formulado al final.

15

Materiales y métodos

En este estudio se usaron los siguientes equipos, dispositivos y reactivos:

20

- Vectores virales AAV8
- almacenamiento a +5 ± 3 °C
- almacenamiento a ≤ -60 °C
- Viales Schott Tipo I de 10 ml y capa de SiO₂
- Tapón 20R Serum NovaPure

25

- Viales Schott Tipo I de 2 ml y capa de SiO₂
- Tapón 13R Serum NovaPure
- Medición de temperatura, Testo 112
- Casetes de diálisis Slide-A-Lyzer® 10K (Thermo

5 Scientific)

Los vectores virales AAV8 purificados se dividieron en alícuotas en partes de 20.5 ml para cada formulación amortiguadora investigada y se dializaron en las formulaciones 1-6 (véase el Ejemplo 1 anterior). La diálisis se realizó 3
10 veces en el volumen de 100 veces en casetes de diálisis Slide-A-Lyzer® 10K de 12-30 ml.

Después del cambio de amortiguador, el material se llenó en viales de vidrio de 10 ml y se almacenaron a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C, se llenaron 2.8 ml durante 0 meses,
15 1 mes (≤ -60 °C), 4 meses ($+5 \pm 3$ °C) y 6 meses (≤ -60 °C). Para todos los demás puntos de tiempo de prueba se usaron 2.2 ml. Se llenó 1 ml de cada solución en viales de vidrio de 2 ml, similar al vial de 10 ml, y se evaluó su apariencia.

20 El material de AAV8 se dializó en las formulaciones amortiguadoras que se muestran anteriormente en la Tabla 1 a la Tabla 5. Además, el AAV8 también se almacenó en la formulación amortiguadora de glucosa (Tabla 6) para investigar las pérdidas de actividad debidas a la
25 oxidación.

Tabla 7 - Caracterización del Almacenamiento

	Condiciones de almacenamiento durante la contaminación:	+5 ± 3 ° C y ≤ -60 °C (punto de ajuste -80 °C)
5	Número de lotes:	1 lote
	Número de lote:	AAV8: PP654_1706_FDP
	Volumen de llenado en viales Schott de 2 ml:	1 ml
	Volumen de llenado en viales Schott de 10 ml:	2.8 ml y 2.2 ml
10	Número total de muestras (objetivo):	86 muestras (78 muestras + 8 muestras de reserva)
	Condiciones de transporte de muestras:	Tubos Eppendorf Protein LoBind de 0.5 ml y 1.5 ml, Las muestras se empacaron sin contacto directo con el hielo seco.

15

Tabla 8 - Pruebas Analíticas

	Atributo de calidad	Detección por método/principio analítico
20	Actividad	Biopotencia <i>in vitro</i>
		Biopotencia <i>in vivo</i>
		ITR-qPCR
	Título de partículas totales (vacío + lleno)	Título de partículas de rAAV8 totales [ELISA]
	Pureza de AAV	SDS-PAGE (tinción de fluorescencia,

25

5	Degradación	gel BisTris al 4-12% con tinción Flamingo)
		nsTEM
	Agregación	SEC [HPLC de exclusión de tamaño]
	Calidad general	CERA (relación cápsides llenas/vacías)
		Método de HPLC de Polisorbatu 80
		Apariencia
		valor de pH

Resultados

10 Título de partículas totales (ELISA)

Este método se usó para determinar partículas intactas de virus adenoasociado - serotipo 8 (AAV8) con un sistema de ELISA-emparedado. Se aplicó un anticuerpo de recubrimiento a una microplaca. Posteriormente se añadió una
15 solución con partículas de AAV8. Las partículas de AAV8 fueron capturadas por el anticuerpo. En el siguiente paso, se agregó otro anticuerpo que detecta partículas de AAV8, este anticuerpo se marcó. En el último paso, se añadió el sustrato para cuantificar la cantidad del título. El título de partículas
20 totales (ELISA) se describe en el documento WO/2018/160975, que se incorpora aquí en su totalidad para todos los propósitos previstos.

En general, todos los resultados generados para el título de partículas totales de AAV8 (ELISA) demostraron una
25 variación normal y las partículas de AAV8 permanecieron

estables para cada formulación amortiguadora y punto de tiempo. Solo la Formulación Amortiguadora 4 mostró una disminución con el almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (Tabla 9 y Figura 1).

Tabla 9 - Título de partículas totales de AAV8 (ELISA)

5	Almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C						
	Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
	Formulación 6	9.75E+11	9.90E+11	9.69E+11		9.00E+11	
	Formulación 1	1.02E+12	1.05E+12	9.65E+11		9.10E+11	
	Formulación 2	1.05E+12	9.75E+11	9.74E+11		9.70E+11	
10	Formulación 3	1.05E+12	1.07E+12	9.94E+11		1.01E+12	
	Formulación 4	9.65E+11	9.35E+11	6.47E+11		6.10E+11	
	Referencia	1.01E+12	1.02E+12	9.36E+11		9.46E+11	
15	Almacenamiento a ≤ -60 °C						
	Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
	Formulación 6	9.75E+11	1.05E+12	9.18E+11	1.03E+12		9.6E+11
	Formulación 1	1.02E+12	1.08E+12	8.95E+11	1.10E+12		1.0E+12
	Formulación 2	1.05E+12	1.08E+12	8.96E+11	1.08E+12		1.0E+12
	Formulación 3	1.05E+12	1.07E+12	1.96E+12	1.07E+12		9.9E+11
20	Formulación 4	9.65E+11	1.03E+12	9.19E+11	1.02E+12		9.0E+11
	Referencia	1.01E+12	1.06E+12	9.56E+11	1.07E+12		9.1E+11

Biopotencia *in vivo*

El ensayo de potencia *in vivo* se realizó en ratones hemofílicos. Para medir la biopotencia *in vivo* causada por la expresión transgénica, de 6 a 8 ratones machos y de 6 a 8

semanas de edad con FVIII inactivados por grupo de dosis recibieron el producto farmacológico final de factor VIII de AAV8 (AAV8-FVIII) (4×10^{12} cp/kg en 100 μ l de formulación amortiguadora) mediante inyección en la vena lateral de la cola del vector AAV8.

Dos semanas después de la administración, se anestesió a los ratones y se extrajo sangre del plexo retroorbital. Se preparó plasma citratado y se analizó la actividad del cofactor del factor VIII mediante un ensayo cromogénico. Los resultados se expresaron en Unidades Internacionales por mililitro (UI/mL). El ensayo de biopotencia *in vivo* también se describe en el documento WO/2018/160975, que se incorpora aquí en su totalidad para todos los propósitos previstos.

Las Formulaciones Amortiguadoras 1-3 demostraron resultados con variación normal, mientras que el amortiguador de referencia mostró una tendencia a disminuir la potencia (Tabla 10 y Figura 2).

Tabla 10 - Biopotencia *in vivo* (UI/ml) $\pm$ DE

Almacenamiento a $+5\pm 3$ °C (Día 14)			
Formulación	0 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6			
Formulación 1	1.23 $\pm$ 0.8	2.01 $\pm$ 0.74	
Formulación 2	1.47 $\pm$ 1	1.78 $\pm$ 0.7	

5	Formulación 3	1.15±0.3	1.24±0.6	
	Formulación 4			
	Referencia	1.62±0.62	1.45±0.67	
	Almacenamiento a ≤ -60 °C (Día 14)			
	Formulación	0 meses	4 meses	6 meses
10	Formulación 6			
	Formulación 1	1.23±0.8		0.76±0.29
	Formulación 2	1.47±1		1.07±0.40
	Formulación 3	1.15±0.3		1.11±0.80
	Formulación 4			
	Referencia	1.62±0.62		1.01±0.42

Biopotencia in vitro

15 Se realizaron ensayos de biopotencia *in vitro* de
 vectores de terapia génica de AAV8-FVIII en la línea de células
 hepáticas humanas HepG2. Después del tratamiento con
 hidroxiurea, las células se infectaron con vectores AAV8-FVIII
 en presencia del factor von Willebrand (VWF) y 5-N-etil-N-
 20 isopropil-amilorida (EIPA) y se incubaron durante 96 ± 3 horas.
 Durante la incubación, el FVIII se expresó y se liberó en el
 sobrenadante celular y se determinó la actividad del FVIII
 mediante la medición del punto final cromogénico. Cada
 ejecución de ensayo incluye una curva de referencia de material
 25 de vector AAV8-FVIII purificado. El ensayo de biopotencia *in*

vitro se describe con mayor detalle en el documento WO/2018/160975, que se incorpora aquí como referencia para todos los propósitos previstos.

Todos los resultados generados para el ensayo de biopotencia *in vitro* mostraron una variación normal (± 0.5 log) y los vectores AAV8 permanecieron estables para cada formulación amortiguadora y punto de tiempo. Solo la Formulación Amortiguadora 4 mostró una disminución tras el almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C (Tabla 11 y Figura 3).

Tabla 11 - Biopotencia *in vitro* (BRU/ml)

Almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C						
Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6	0.28	0.23	0.21		0.24	
Formulación 1	0.27	0.23	0.20		0.22	
Formulación 2	0.30	0.24	0.21		0.22	
Formulación 3	0.22	0.18	0.16		0.16	
Formulación 4	0.22	0.18	0.09		0.08	
Referencia	0.27	0.21	0.19		0.18	
Almacenamiento a ≤ -60 °C						
Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6	0.28	0.26	0.22	0.27		0.24
Formulación 1	0.27	0.22	0.22	0.30		0.25
Formulación 2	0.30	0.25	0.23	0.29		0.29
Formulación 3	0.22	0.20	0.24	0.24		0.19
Formulación 4	0.22	0.19	0.19	0.23		0.23
Referencia	0.27	0.24	0.22	0.24		0.22

ITR-qPCR

Para ITR-qPCR para FVIII, el título del genoma del vector (vg) por mililitro (ml) se determinó usando un qPCR basado en TaqMan con cebadores y una sonda marcada con fluorescencia que detecta una secuencia dentro de las secuencias ITR del genoma del vector. Para detectar la secuencia específica de ITR en la partícula de AAV, las muestras se trataron con ADNasa I y, después de una etapa de proteinasa K posterior, se liberó el genoma de scAAV de la cápside. Finalmente, se realizó una digestión con enzimas de restricción con SmaI para resolver las estructuras en forma de T de ITR de AAV. El ensayo ITR-qPCR se describe en el documento WO/2018/160975, que se incorpora aquí en su totalidad para todos los propósitos previstos.

Los resultados de la prueba mostraron una variación logarítmica de ± 0.5 para el ensayo ITR-qPCR para cada formulación amortiguadora y cada punto de tiempo durante el almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C y ≤ -60 °C (punto de ajuste -80 °C) (Tabla 12 y Figura 4).

Tabla 12 - ITR-qPCR (vg/ml)

Almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C						
Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6	2.96E+12	2.87E+12	2.31E+12		3.97E+12	
Formulación 1	2.38E+12	2.92E+12	2.68E+12		3.42E+12	
Formulación 2	3.00E+12	3.10E+12	2.75E+12		3.51E+12	

5 10	Formulación 3	3.13E+12	3.31E+12	2.61E+12		3.57E+12	
	Formulación 4	2.78E+12	2.69E+12	2.23E+12		2.33E+12	
	Referencia	2.43E+12	2.86E+12	2.44E+12		3.31E+12	
	Almacenamiento a ≤ -60 °C						
	Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
	Formulación 6	2.96E+12	2.82E+12	2.50E+12	5.14E+12		3.09E+12
	Formulación 1	2.38E+12	3.08E+12	2.70E+12	3.18E+12		3.20E+12
	Formulación 2	3.00E+12	2.84E+12	2.62E+12	2.02E+12		3.02E+12
	Formulación 3	3.13E+12	3.41E+12	2.89E+12	3.85E+12		2.58E+12
	Formulación 4	2.78E+12	2.58E+12	2.24E+12	2.79E+12		2.52E+12
	Referencia	2.43E+12	2.74E+12	2.81E+12	3.51E+12		2.51E+12

Agregados

Los agregados se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño (SE-HPLC, por sus siglas en inglés). Se usó cromatografía de exclusión por tamaño (SE-HPLC) para separar los analitos basándose en su diámetro hidrodinámico. Las moléculas más grandes no pueden o solo pueden penetrar parcialmente los poros del material de relleno de la columna, mientras que las moléculas más pequeñas pueden acceder a la mayoría o a todos los poros. Por tanto, las partículas grandes eluyen primero y las más pequeñas después.

Los virus adenoasociados pueden ensamblarse en agregados. Con el método descrito, los agregados se pueden separar de los monómeros y se pueden cuantificar. La cantidad de Agregados y Monómeros, que en conjunto totalizan el 100%,

se detectó mediante fluorescencia intrínseca y se calculó como porcentajes del área total del pico.

No se puede ver ni una disminución ni un aumento para los agregados con las diferentes formulaciones amortiguadoras y puntos de tiempo. Solo la Formulación Amortiguadora 4 almacenada a $+5 \pm 3$ °C disminuyó de 4.2% a 2.9% (Tabla 13 y Figura 5), lo que puede explicarse por el hecho de que el ensayo de ELISA demostró una disminución en los valores de título de partículas totales de AAV8 para las mismas muestras.

10 **Tabla 13 - Agregados (%)**

Almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C						
Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6	3.3	3.4	3.4		3.5	
Formulación 1	3.1	2.8	3.2		3.3	
Formulación 2	3.5	3.0	3.1		3.2	
Formulación 3	3.5	3.2	3.8		4.1	
Formulación 4	4.2	3.3	4.1		2.9	
Referencia	3.4	2.8	3.3		3.4	
Almacenamiento a ≤ -60 °C						
Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6	3.3	3.7	3.9	3.1		3.2
Formulación 1	3.1	2.9	3.3	2.4		3.1
Formulación 2	3.5	3.2	3.5	3.0		3.3
Formulación 3	3.5	3.4	3.6	3.0		3.6
Formulación 4	4.2	3.4	4.1	3.4		3.6
Referencia	3.4	2.9	3.4	2.8		3.2

Densidad

25 La densidad es necesaria para la dilución exacta a

un valor definido de la potencia del producto y para llenar el valor correcto en el recipiente final.

Tabla 14 - Densidad (g/ml)

	AAV8 en Diferentes Formulaciones	[g/ml]
5	Formulación 6	1.0056
	Formulación 1	1.0059
	Formulación 2	1.0077
	Formulación 3	1.0066
	Formulación 4	1.0043
10	Referencia	1.0054

Osmolalidad

La osmolalidad del líquido cefalorraquídeo es de aproximadamente 295 [mOsmol/kg]. La administración de una sustancia con mayor o menor osmolalidad que el líquido cefalorraquídeo puede influir negativamente en la presión en las células que están en contacto con la solución inyectada, lo que puede dar como resultado la generación de células necróticas. Con base en los valores de osmolalidad que se muestran en la Tabla 15, cada una de las formulaciones se puede usar para la administración, por ejemplo, intracerebroventricular (ICV), intravítreal (IVT), intratecal (IT) así como intravenosa (IV), subcutánea (SC) o intramuscular (IM).

Tabla 15 - Osmolalidad (mOsmol/kg)

5

10

Formulación	[mOsmol/kg]
1	305
2	347
3	320
4	259
6	305
Referencia	288

pH

15

Los valores de pH no mostraron cambios significativos durante los periodos de almacenamiento de 4 meses a $+5 \pm 3$ °C y a ≤ -60 °C (punto de ajuste -80 °C). Los valores de pH de la Formulación 4 no fueron estables. Una explicación de la falta de estabilidad puede ser que la evaporación del dióxido de carbono cambió el valor de pH de 7.02 a 8.67 u 8.69 durante manipulaciones tales como la agitación durante las diálisis.

Tabla 16 - Valores de pH (media de 2 mediciones)

20

Almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C						
Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6	7.02	7.01	7.04		7.04	
Formulación 1	6.96	6.87	6.89		6.92	
Formulación 2	6.96	6.93	6.89		6.90	

25

5	Formulación 3	6.98	6.92	6.96		6.94	
	Formulación 4	8.67	8.66	8.82		8.71	
	Referencia	7.00	6.77	7.03		7.00	
	Almacenamiento a ≤ -60 °C						
	Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
	Formulación 6	7.02	7.02	7.04	7.00		7.03
	Formulación 1	6.97	6.88	6.89	6.91		6.90
10	Formulación 2	6.96	6.94	6.96	6.92		6.93
	Formulación 3	6.98	6.93	6.93	6.94		6.93
	Formulación 4	8.69	8.71	8.83	8.63		8.73
	Referencia	7.00	6.77	6.96	7.02		6.98

Apariencia

Sólo se encontró una partícula durante la prueba de apariencia de la Formación 6 después de uno y dos meses de almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C. Para cada otra formulación en cada temperatura y punto de tiempo de prueba, las pruebas de apariencia demostraron una solución transparente e incolora sin partículas. La Referencia tampoco mostró partículas, lo que puede deberse a la presencia de 0.003% de Polisorbatu 80 y 0.001% de Pluronic F - 68. Dado que el Polisorbatu 80 no se pudo separar completamente de las formulaciones del texto, un amortiguador de referencia con aproximadamente 0.002% - se creó un 0.003% de Polisorbatu 80 y un 0.001% de Pluronic F - 68, que tampoco mostró partículas.

Tabla 17 - Apariencia

Almacenamiento a $+5\pm 3$ °C						
Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6	cumple	claro, incoloro, 1 partícula	claro, incoloro, 1 partícula		cumple	
Formulación 1	cumple	cumple	cumple		cumple	
Formulación 2	cumple	claro, incoloro, sin partículas	claro, incoloro, sin partículas		cumple	
Formulación 3	cumple	cumple	cumple		cumple	
Formulación 4	cumple	cumple	cumple		cumple	
Referencia	cumple	cumple	cumple		cumple	
Almacenamiento a ≤ -60 °C						
Formulación	0 meses	1 mes	2 meses	3 meses	4 meses	6 meses
Formulación 6	cumple	cumple	cumple	cumple		cumple
Formulación 1	cumple	cumple	cumple	cumple		cumple
Formulación 2	cumple	cumple	cumple	cumple		cumple
Formulación 3	cumple	cumple	cumple	cumple		cumple
Formulación 4	cumple	cumple	cumple	cumple		cumple
Referencia	cumple	cumple	cumple	cumple		cumple

Polisorbatu 80

Los resultados del Polisorbatu 80 muestran que para la referencia, el PS80 no pudo separarse completamente. Por lo tanto, no se puede encontrar de 0.003% a 0.004% de Polisorbatu 80 para cada una de las formulaciones.

Tabla 18 - Polisorbatu 80 (mg/ml)

Formulación	0 meses
Formulación 6	0.004
Formulación 1	0.003
Formulación 2	0.003
Formulación 3	0.003
Formulación 4	0.003
Referencia ¹	0.003

¹ Durante las diálisis, el Polisorbatu 80 no se pudo separar completamente.

SDS-PAGE

Los serotipos de AAV representan partículas de virus de AAV que contienen un vector (transgén, plásmido auxiliar, etc.), respectivamente. Las partículas de AAV de diferentes productos consisten de las proteínas estructurales virales VP1, VP2 y VP3. La diferencia entre los serotipos es el contenido de la cápside. El método actual tiene como objetivo la visualización de estas proteínas estructurales. El ensayo SDS PAGE está calificado para cápsides de virus adenoasociados y,

por lo tanto, es aplicable a todos los serotipos de AAV, incluidos los serotipos AAV6, AAV8 y AAV9.

Las muestras se diluyen 1: 2 en amortiguador de muestra SDS para realizar la electroforesis. El dodecilsulfato de sodio (SDS) y el dodecilsulfato de litio (LDS),
5 respectivamente, recubren la proteína con una carga negativa uniforme, por lo que su separación se basa únicamente en el peso molecular (diámetro hidrodinámico).

La tinción con plata, así como el Western blot, no
10 mostraron degradación y/o banda adicional para cada formulación amortiguadora, temperatura y punto de tiempo de prueba (Figuras 5-13). El frotis que se puede ver para la Formulación Amortiguadora 6 después de 2 meses a $+5 \pm 3$ °C (Figura 9) puede verse como un artefacto debido a bandas limpias para esta
15 muestra después de volver a realizar la prueba (Figura 8) y sin hallazgos en el Western blot (Figura 10).

nsTEM

nsTEM es un método en el que las células teñidas negativamente se investigaron mediante microscopía
20 electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés). Clásicamente, TEM necesita fijación, deshidratación, seccionamiento y una "tinción" selectiva de las estructuras celulares y tisulares. La "tinción" es un medio para recibir imágenes en color, no siempre se
25 puede usar de forma eficaz en conjunto con un microscopio

electrónico. Es posible mejorar las estructuras para TEM impregnando la muestra con sales de metales pesados (por ejemplo, plomo, tungsteno y uranio). Una descripción de las posibles técnicas nsTEM se discute con más detalle en

5 Barreto-Vieira y Bath "Negative and Positive staining in Transmission Electron Microscopy for Virus Diagnosis" en *Microbiology in Agriculture and Human Health*, <http://dx.doi.org/10.5772/60511>, que se incorpora aquí como referencia para todos los propósitos previstos. En

10 este caso, el contraste no se aplica al objeto sino a su entorno, usando las sales de metales pesados. El haz de electrones puede atravesar material biológico más fácilmente que el espacio circundante. El resultado se asemeja a una imagen TEM tradicional invertida. En algunas

15 modalidades, la solución de tinción estándar puede ser un ácido fosfotúngstico acuoso al 1% con pH 7.2. Se aplicó una gota fija o sin fijar de suspensión viral sobre una rejilla de microscopio electrónico cubierta de formvar o colodio durante unos segundos; el líquido fue absorbido

20 por un papel de filtro, luego se aplicó una gota de la solución colorante y pocos segundos después también se absorbió. Después de secar, la muestra se introdujo en el haz de electrones.

Los resultados de esta investigación se cuantifican

25 como <10%, 50% y > 90% (Figuras 14-17).

La Formulación Amortiguadora 2 fue la que mejor funcionó, seguida de la Formulación Amortiguadora 1.

Discusión

5 Todos los resultados generados para el título de partículas totales de AAV8 (ELISA) mostraron resultados de prueba en el intervalo de la variación normal, y permanecieron estables para cada formulación amortiguadora y punto de tiempo. Sólo la formulación amortiguadora 4 mostró una disminución tras el almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C.

10 Los resultados de biopotencia *in vivo* demostraron una variación normal para las Formulaciones Amortiguadoras 1-3, mientras que la referencia demostró una tendencia a disminuir.

15 Todos los resultados generados para el ensayo de biopotencia *in vitro* mostraron una variación normal, y cada formulación amortiguadora permaneció biopotentemente estable en cada punto de tiempo analizado. Solo la formulación amortiguadora 4 mostró una disminución en la biopotencia *in vitro* durante el almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C.

20 El ensayo ITR-qPCR exhibió una variación normal en cada composición y punto de tiempo probado durante el almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C y ≤ -60 °C (punto de ajuste -80 °C).

25 Los agregados no disminuyeron ni aumentaron en las diferentes formulaciones amortiguadoras durante los puntos de tiempo probados. Solo la Formulación Amortiguadora 4 almacenada

a $+5 \pm 3$ °C disminuyó de 4.2% a 2.9%, lo cual, como se discutió anteriormente, puede explicarse por el hecho de que el ensayo de ELISA demostró una disminución en los valores de título de partículas totales de AAV8 para las mismas muestras.

5 Los valores de pH no mostraron cambios significativos durante los períodos de almacenamiento de 4 meses a $+5 \pm 3$ °C y a ≤ -60 °C (punto de ajuste -80 °C). Los valores de pH de la formulación amortiguadora 4 no fueron tan estables, lo que puede deberse a la influencia de la evaporación del dióxido de

10 carbono que cambia el valor de pH de 7.02 a 8.67 u 8.69 durante la manipulación del cultivo celular (por ejemplo, agitación durante las diálisis).

La Formulación Amortiguadora 6 solo desarrolló una partícula después de uno y dos meses de almacenamiento a $+5 \pm$

15 3 °C. Para cada Formulación Amortiguadora, la temperatura y el tiempo de prueba señalan que se puede ver una solución transparente e incolora sin partículas. La Referencia tampoco muestra partículas visibles, lo que puede deberse a la presencia de 0.003% de Polisorbatu 80 y 0.001% de Pluronic F -

20 68. Durante las diálisis, el Polisorbatu 80 no pudo separarse completamente, lo que podría explicar los resultados observados.

La tinción con plata, así como el Western blot, no mostraron degradación y/o bandas adicionales para cada

25 formulación amortiguadora, temperatura y punto de tiempo.

EJEMPLO 3

La estabilidad del serotipo 9 de AAV (AAV9) en tres formulaciones amortiguadoras diferentes almacenadas en viales de vidrio sellados de 10 ml de SiO₂ a $+5 \pm 3$ °C durante hasta 5 6 meses (0 meses, 2 y 6 semanas, 3 y 6 meses) y a ≤ -60 °C (punto de ajuste -80 °C) durante un máximo de 12 meses (2 y 6 semanas, 3, 6 y 12 meses). Para cada punto de tiempo, se introdujeron 2 ml en viales de SiO₂ de 10 ml. Este estudio se realizó con material de terapia génica AAV9 filtrado estéril y 10 formulado al final.

Material es y métodos

En este estudio se usaron los siguientes equipos, dispositivos y reactivos:

- Vectores virales AAV9 (concentración de 58.3×10^{12} 15 vg/ml diluidos a 3.5×10^{12} vg/ml (ambos ITR qPCR).
- Jeringa Therumo de 20 ml
- Jeringa Braun Omnifix de 50 ml
- Eppendorf 10 ml biopur combitip
- Membrana Supor EKV en filtros de jeringa Mini 20 Kleenpak
- almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C a
- almacenamiento a ≤ -60 °C
- Viales Schott Tipo I de 10 ml y capa de SiO₂
- Tapón de goma de clorobutilo de 20 mm
- 25 • Sellos de giro

- Estuche transparente PRIMA Clearpeel
- Aguja hipodérmica Sterican de 1.1 x 30 mm
- Medición de temperatura, Testo 112
- Mediciones de pH, testo 230
- 5 • Casetes de diálisis Slide-A-Lyzer® 10K (Thermo Scientific)
- Viales Schott Tipo I de 2 ml y capa de SiO₂
- Tapón de caucho de clorobutilo de 13 mm

El material de AAV9 se diluyó a una
 10 concentración objetivo de 3.5×10^{12} vg/ml (ITR qPCR) y se dividió en alícuotas en partes de 22 ml para cada formulación amortiguadora y se dializó en las Formulaciones Amortiguadoras 1-3 o la Referencia (ver Tablas 1-3). La diálisis se realizó tres veces en el
 15 volumen de 100 veces en casetes de diálisis Slide-A-Lyzer® 10K de 12-30 ml. Después del cambio de amortiguador, el material se llenó (2 ml) en viales de vidrio de 10 ml. Las muestras para investigaciones de apariencia y pH se llenaron por separado con el mismo
 20 volumen. En cada momento de prueba, las muestras se dividieron en alícuotas y se almacenaron en hielo seco. Solo las muestras de biopotencia *in vivo* se almacenaron a ≤ -60 °C en el momento de prueba 0 para generar los resultados de las 4 semanas y el material se almacenó
 25 después de 4 semanas para generar los resultados de las

8 semanas. Las muestras de $+5 \pm 3$ °C después de 4 semanas se almacenaron congeladas para el mismo ensayo.

Resultados

Título de partículas totales (ELISA)

5 Se usó el sistema ELISA de emparejado para determinar el número de partículas de AAV9 intactas. Se aplicó un anticuerpo de recubrimiento a una microplaca. Posteriormente se añadió una solución con partículas de AAV9 y el anticuerpo capturó las partículas de AAV9. En
10 el siguiente paso, se agregó otro anticuerpo que detecta partículas de AAV9, este anticuerpo se marcó con una porción de detección. En el último paso, se añadió el sustrato y se detuvo la reacción para cuantificar el nivel total de títulos de AAV9.

15 El título de partículas totales de AAV9 (ELISA) permaneció estable para las formulaciones amortiguadoras 1 y 2 durante hasta 6 meses para ambas temperaturas, mientras que la formulación amortiguadora 3 permaneció estable a ≤ -60 °C y mostró una ligera disminución a $+5$
20 ± 3 °C después de 3 meses. El Amortiguador de Referencia mostró una disminución en el título del 65% para el almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C, así como una recuperación del 73% para el almacenamiento a ≤ -60 °C (Tabla 19 y Figura 18).

Tabla 19 - Título de partículas totales de AAV9 (ELISA)

5	almacenamiento a +5±3°C	0 meses [cp/ml]	4 semanas [cp/ml]	8 semanas [cp/ml]	3 meses [cp/ml]	6 meses [cp/ml]
	Formulación 1	1.50 x 10 ¹²	1.58 x 10 ¹²	1.56 x 10 ¹²	1.55 x 10 ¹²	1.36 x 10 ¹²
	Formulación 2	1.59 x 10 ¹²	1.66 x 10 ¹²	1.59 x 10 ¹²	1.63 x 10 ¹²	1.41 x 10 ¹²
	Formulación 3	1.61 x 10 ¹²	1.61 x 10 ¹²	1.61 x 10 ¹²	1.63 x 10 ¹²	1.25 x 10 ¹²
	Referencia	1.46 x 10 ¹²	1.34 x 10 ¹²	1.28 x 10 ¹²	1.24 x 10 ¹²	9.44 x 10 ¹¹
10	recuperación	0 meses [%]	4 semanas [%]	8 semanas [%]	3 meses [%]	6 meses [%]
	Formulación 1	100	105	104	103	91
	Formulación 2	100	104	100	103	89
	Formulación 3	100	100	100	101	78
	Referencia	100	92	88	85	65
15	almacenamiento a ≤ -60°C	0 meses [cp/ml]	4 semanas [cp/ml]	8 semanas [cp/ml]	3 meses [cp/ml]	6 meses [cp/ml]
	Formulación 1	1.50 x 10 ¹²	1.56 x 10 ¹²	1.57 x 10 ¹²	1.41 x 10 ¹²	1.41 x 10 ¹²
	Formulación 2	1.59 x 10 ¹²	1.67 x 10 ¹²	1.61 x 10 ¹²	1.57 x 10 ¹²	1.32 x 10 ¹²
	Formulación 3	1.61 x 10 ¹²	1.62 x 10 ¹²	1.61 x 10 ¹²	1.60 x 10 ¹²	1.55 x 10 ¹²
	Referencia	1.46 x 10 ¹²	1.40 x 10 ¹²	1.33 x 10 ¹²	1.41 x 10 ¹²	1.06 x 10 ¹²
20	recuperación	0 meses [%]	4 semanas [%]	8 semanas [%]	3 meses [%]	6 meses [%]
	Formulación 1	100	104	104	94	94
	Formulación 2	100	105	102	99	83
	Formulación 3	100	100	100	99	96
	Referencia	100	96	91	97	73

HT2-qPCR

Las muestras se trataron con ADNasa I y se analizaron
mediante el sistema qPCR en Tiempo Real. Se usó un par

convencional de cebadores de citomegalovirus (CMV) (es decir, para detectar el promotor de CMV), específicos para el gen de copia única, en combinación con una sonda marcada con fluorescencia (Reportero: FAM, Quencher: Black Hole Quencher (BHQ)). El análisis y cuantificación de los productos de la PCR se realizó mediante la detección y cuantificación de la fluorescencia derivada de la escisión de la sonda durante el proceso de amplificación.

El ensayo HT2-qPCR muestra que no se observaron pérdidas para las Formulaciones Amortiguadoras 1-3 (Tabla 20 y Figura 19).

Tabla 20 - HT2-qPCR

almacenamiento a +5±3 °C	0 meses [vg/ml]	4 semanas [vg/ml]	8 semanas [vg/ml]	3 meses [vg/ml]	6 meses [vg/ml]
Formulación 1	4.28 x 10 ¹¹	3.92 x 10 ¹¹	4.75 x 10 ¹¹	4.80 x 10 ¹¹	6.01 x 10 ¹¹
Formulación 2	3.91 x 10 ¹¹	4.07 x 10 ¹¹	3.91 x 10 ¹¹	3.84 x 10 ¹¹	6.33 x 10 ¹¹
Formulación 3	4.44 x 10 ¹¹	4.42 x 10 ¹¹	4.54 x 10 ¹¹	4.26 x 10 ¹¹	7.92 x 10 ¹¹
Referencia	3.44 x 10 ¹¹	3.82 x 10 ¹¹	3.21 x 10 ¹¹	3.30 x 10 ¹¹	3.65 x 10 ¹¹
recuperación	0 meses [%]	4 semanas [%]	8 semanas [%]	3 meses [%]	6 meses [%]
Formulación 1	100	92	111	112	140
Formulación 2	100	104	111	112	140
Formulación 3	100	100	100	98	162

	Referencia	100	111	93	96	106
	almacenamiento a ≤ -60 °C	0 meses [vg/ml]	4 semanas [vg/ml]	8 semanas [vg/ml]	3 meses [vg/ml]	6 meses [vg/ml]
5	Formulación 1	4.28 x 10 ¹¹	4.19 x 10 ¹¹	3.76 x 10 ¹¹	3.57 x 10 ¹¹	5.83 x 10 ¹¹
	Formulación 2	3.91 x 10 ¹¹	4.36 x 10 ¹¹	3.56 x 10 ¹¹	4.05 x 10 ¹¹	5.76 x 10 ¹¹
	Formulación 3	4.44 x 10 ¹¹	4.26 x 10 ¹¹	4.01 x 10 ¹¹	4.14 x 10 ¹¹	5.74 x 10 ¹¹
	Referencia	3.44 x 10 ¹¹	4.07 x 10 ¹¹	3.27 x 10 ¹¹	3.75 x 10 ¹¹	4.97 x 10 ¹¹
10	recuperación	0 meses [%]	4 semanas [%]	8 semanas [%]	3 meses [%]	6 meses [%]
	Formulación 1	100	98	88	83	136
	Formulación 2	100	112	91	104	147
	Formulación 3	100	96	90	93	129
15	Referencia	100	118	95	109	144

Biopotencia *in vivo*

Se aisló el ARN total de tejido del cuerpo estriado congelado instantáneamente (kit AllPrep, Qiagen). Se midió la concentración de ARN (Nanodrop, Thermo Fisher) y todas las muestras se diluyeron a 100 ng/μl. Se sintetizó ADNc de primera hebra con 1 μg de entrada de ARN (ARN a ADNc de alta capacidad, Thermo Fisher). Se usaron un ensayo HTT humano de diseño personalizado (0.5 μM de cebador directo GCCCGGCTGTGGCTGA, 0.5 μM de cebador inverso TTCACACGGTCTTTCTTGGTGG, sonda 0.25 μM de TGCACCGACCAAAGAAGGAAGTCT) y un ensayo Actb murino comercial

(Mm.PT.39a.22214843.g, para la RT-PCR. Se realizó RT-PCR en un QuantStudio 7 (Thermo Fisher) usando un ciclo estándar, y los datos se analizaron con el método delta Ct de acuerdo con PMID 11846609. En resumen, se usó el promedio de tres réplicas técnicas y los valores de HTT Ct se normalizaron mediante los valores de Actb Ct para calcular el dCt. Los valores de dCt se normalizaron posteriormente al dCt promedio del grupo de vector nulo para calcular el ddCt, de modo que el ddCt promedio del grupo de vector nulo sea 0. El cambio proporcional se calculó como 2^{-ddCt} . (Tabla 21 y Figura 20).

Tabla 21 - Biopotencia *in vivo* (expresión relativa de mHTT)

Dosificación	Formulación 1	Promedio	SD
4.13×10^{11} vg/ratón	HD4, ≤ -60 °C, 4 semanas	0.351	0.329
4.13×10^9 vg/ratón	HD4, $+5 \pm 3$ °C/ ≤ -60 °C, 8 semanas	0.753	0.149
3.00×10^{10} vg/ratón	HD4, ≤ -60 °C, 8 semanas	0.598	0.679
Dosificación	Formulación 2	Promedio	SD
4.13×10^{11} vg/ratón	HD9, ≤ -60 °C, 4 semanas	0.311	0.091
4.13×10^9 vg/ratón	HD9, $+5 \pm 3$ °C/ ≤ -60 °C, 8 semanas	0.879	0.245
3.00×10^{10} vg/ratón	HD9, ≤ -60 °C, 8 semanas	0.297	0.160
Dosificación	Formulación 3	Promedio	SD
4.13×10^{11} vg/ratón	HD16, ≤ -60 °C, 4 semanas	0.428	0.214
4.13×10^9 vg/ratón	HD16, $+5 \pm 3$ °C/ ≤ -60 °C, 8 semanas	0.556	0.402
3.00×10^{10} vg/ratón	HD16, ≤ -60 °C, 8 semanas	0.298	0.117

Dosificación	Referencia	Promedio	SD
4.13 x 10 ¹¹ vg/ratón	Referencia, ≤ -60 °C, 4 semanas	0.497	0.405
4.13 x 10 ⁹ vg/ratón	Referencia, +5±3 °C/≤ -60 °C, 8 semanas	0.614	0.525
3.00 x 10 ¹⁰ vg/ratón	Referencia, ≤ -60 °C, 8 semanas	0.113	0.025

Agregados

Los agregados se analizaron como se describe en el Ejemplo 2.

El amortiguador de Referencia mostró la menor cantidad de agregados (0.5% a 0.8%) mientras que las formulaciones amortiguadoras 1-3 desarrollaron agregados en el intervalo de 0.9% a 1.4%. Sin embargo, no se detectó ningún aumento de agregados durante el almacenamiento a +5 ± 3 °C y ≤ -60 °C hasta por 6 meses.

Tabla 22 - SEC, agregados (%)

almacenamiento a +5±3 °C	0 meses [%]	4 semanas [%]	8 semanas [%]	3 meses [%]	6 meses [%]
Formulación 1	1.1	0.9	1.0	1.0	1.0
Formulación 2	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0
Formulación 3	1.1	1.0	1.1	1.1	1.1
Referencia	0.7	0.5	0.7	0.6	0.7
almacenamiento a ≤ -60 °C	0 meses [%]	4 semanas [%]	8 semanas [%]	3 meses [%]	6 meses [%]

Formulación 1	1.1	1.0	1.0	0.8	1.0
Formulación 2	1.1	1.0	1.1	1.0	1.1
Formulación 3	1.1	1.0	1.4	1.0	1.1
Referencia	0.7	0.5	0.8	0.7	0.6

5

El porcentaje de cápsides completas, probado al comienzo de este estudio, mostró intervalos entre el 53% y el 62%.

pH

10

No hubo cambios en los valores de pH para cada formulación amortiguadora y para ambas temperaturas de almacenamiento.

Tabla 23 - Valores de pH

15

almacenamiento a	0 meses	4 semanas	8 semanas	3 meses	6 meses
+5±3 °C					
Formulación 1	7.01	6.87	6.96	6.92	7.00
Formulación 2	6.98	6.88	6.99	6.95	7.01
Formulación 3	6.92	6.85	6.92	6.96	6.97
Referencia	7.06	7.03	7.09	7.06	7.15
almacenamiento a ≤ -	0 meses	4 semanas	8 semanas	3 meses	6 meses
60 °C					
Formulación 1	7.01	6.88	6.96	6.99	6.99
Formulación 2	6.98	6.86	7.00	7.00	7.01
Formulación 3	6.92	6.83	6.93	6.95	6.97
Referencia	7.06	7.04	7.10	7.13	7.15

20

25

Apariencia

Cumple significa: solución transparente, incolora, sin partículas visibles.

No se encontraron partículas ni cambios de color en las diferentes formulaciones amortiguadoras y a las diferentes temperaturas.

Tabla 24 - Apariencia (laboratorio TSFF/FD)

	almacenamiento a	0 meses	4 semanas	8 semanas	3 meses	6 meses
	+5±3 °C					
10	Formulación 1	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
	Formulación 2	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
	Formulación 3	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
	Referencia	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
	almacenamiento a	0 meses	4 semanas	8 semanas	3 meses	6 meses
15	≤ -60 °C					
	Formulación 1	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
	Formulación 2	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
	Formulación 3	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
20	Referencia	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple

SDS-PAGE, Western blot y tinción con plata

Los estudios de SDS-PAGE se realizaron como se describe en el Ejemplo 2.

La SDS-PAGE, el Western blot anticápside así como los geles teñidos con plata no mostraron bandas de degradación

durante el mismo período de tiempo (Figuras 21-29). Todos los serotipos de AAV9 en las diferentes formulaciones amortiguadoras almacenadas a $+5 \pm 3$ °C o ≤ -60 °C pueden considerarse estables durante al menos 6 meses.

5 Endotoxinas

El control de las endotoxinas después de 6 meses de almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C da la garantía de que todos los resultados generados durante este período de tiempo de 6 meses se realizaron dando como resultado la misma calidad de las

10 muestras.

Tabla 25 - Endotoxinas (LAL) (EU/ml))

almacenamiento a $+5 \pm 3$ °C	0 meses [EU/ml]	6 meses [EU/ml]
Formulación 1	< 0.500	< 0.500
Formulación 2	< 0.500	< 0.500
Formulación 3	< 0.500	< 0.500
Referencia	< 0.500	< 0.500

Polisorbatu 80

20 Polisorbatu 80 con una concentración objetivo de 0.003% (objetivo 30 µg/mL) no mostró pérdidas durante el tiempo de almacenamiento de 6 meses a $+5 \pm 3$ °C. Para AAV9 en la Formulación Amortiguadora 1 se obtuvieron resultados no concluyentes (alrededor de 100 µg/ml de Polisorbatu 80 en lugar

25 de los 30 µg/ml esperados), mientras que el amortiguador acorde

mostró un contenido de Polisorbatu 80 de 36.7 µg/ml). Los resultados para el almacenamiento a ≤ -60 °C se generarán después de 12 meses, al final de este estudio. Los datos demuestran que no hay pérdida de Polisorbatu 80 durante el almacenamiento.

Tabla 26 - Polisorbatu 80 (µg/ml)

almacenamiento a +5±3 °C	0 meses [µg/mL]	6 meses [µg/mL]
Formulación 1	101.4	94.1
Formulación 2	35.9	33.8
Formulación 3	28.5	25.9
Referencia	< 20.0	< 20.0
almacenamiento a ≤ -60 °C	0 meses [µg/mL]	6 meses [µg/mL]
Formulación 1	101.4	
Formulación 2	35.9	
Formulación 3	28.5	
Referencia	< 20.0	

Viscosidad, densidad y osmolalidad

La osmolalidad del líquido cefalorraquídeo es de aproximadamente 295. La admisión de una sustancia con una osmolalidad mayor o menor puede influir negativamente en la presión en las células que están en contacto con la solución.

Tabla 27 - Viscosidad, densidad y osmolalidad

Nombre del amortiguador	Viscosidad [mPa.s]	Densidad [g/cm²]	Osmolalidad [mOsmol/kg]
Formulación 1	1.028	1.006	305
Formulación 2	1.047	1.007	347

Formulación 3	1.049	1.005	320
Referencia	1.028	1.001	288

NsTEM (morfología) y CryoTEM (porcentaje de cápsides llenas)

5 CryoTEM, también conocida como criomicroscopía electrónica de transmisión, es un tipo de microscopía electrónica de transmisión (TEM) en la que la muestra se investiga a temperaturas criogénicas (por ejemplo, temperaturas de nitrógeno líquido). Las muestras no se tiñen
10 ni se fijan para que se muestren en su entorno nativo sin ninguna influencia extraña. Con este método es posible la determinación de estructuras macromoleculares a una resolución casi atómica.

Tabla 28 - CryoTEM (porcentaje de cápsides llenas)

15

Nombre del amortiguador	0 meses [%cápsides llenas]
Formulación 1	53
Formulación 2	57
Formulación 3	55
Referencia	62

20 La nsTEM se realizó como se describe en el Ejemplo 2. La nsTEM es un método en el que las células teñidas negativamente se investigan mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). Se mostraron resultados similares para cada una de las formulaciones amortiguadoras (Figuras 30-33).

EJEMPLO 4

Se estudió la estabilidad del AAV6 en La Formulación Amortiguadora 2. Se almacenaron 2.6 g de material de AAV6 en NaCl 200 mM y glicina 100 mM. El valor de pH se ajustó con TRIS 1 M (pH 8.5) a 7.58. Se añadió 0.003% de Polisorbatu 80 antes del envío. Finalmente, la muestra se dializó frente al amortiguador de formulación amortiguadora 2. El cambio de amortiguador se realizó tres veces con el volumen de 100 veces de la muestra y un mínimo de 4 horas. Después del cambio de amortiguador, el material se diluyó 1:1.915 y se dividió en 3 partes. 2 de ellas se congelaron a ≤ -60 °C (punto de ajuste - 80 °C) durante un máximo de 2 meses y una se dividió en alícuotas en el tamaño de la muestra para análisis de inmediato, que luego se repitió después de 1 y 2 meses.

Tabla 29 - Parámetros para el serotipo AAV6 almacenado a ≤ -60 °C hasta por 2 meses

almacenamiento a ≤ -60 °C	material inicial	0 meses (diluido)	1 mes (diluido)	2 meses (diluido)
ITR-qPCR	8.21E+12	4.64E+12	4.40E+12	4.94E+12
recuperación [%]	1:1.915	100	95	106
AAV ELISA	2.90E+12	2.34E+12	2.00E+12	1.95E+12
recuperación [%]	1:1.915	100	85	84
Agregados [%]	0.1	0.1	0.1	0.1
SDS PAGE/Pureza	cumple	cumple	cumple	cumple/100%
Apariencia		cumple	cumple	cumple
valor de pH	7.58	n.a.	n.a.	7.03

Las figuras 34 y 35 presentan tinción con plata y

transferencias de western de las partículas de AAV después del almacenamiento.

EJEMPLO 5

Este ejemplo demuestra formulaciones amortiguadoras adicionales para la fabricación. Estas formulaciones amortiguadoras podrían ser útiles en composiciones de AAV liofilizadas y/o líquidas.

Tabla 30 - Formulación Amortiguadora 7

10	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	10 mM	1.55
	Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
15	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 31 - Formulación Amortiguadora 8

20	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	10 mM	1.55
	NaCl	58.44	30 mM	1.75
	Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 32 - Formulación Amortiguadora 9

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	60 mM	3.51
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 33 - Formulación Amortiguadora 10

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	80 mM	4.68
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 34 - Formulación Amortiguadora 11

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	100 mM	5.84
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71

Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

5

Tabla 35 - Formulación Amortiguadora 12

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	120 mM	7.01
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

10

15

Tabla 36 - Formulación Amortiguadora 13

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	150 mM	8.77
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

20

25

Tabla 37 - Formulación Amortiguadora 14

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	180 mM	10.52
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 38 - Formulación Amortiguadora 15

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	200 mM	11.69
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 39 - Formulación Amortiguadora 16

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	225 mM	13.15
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71

Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

5

Tabla 40 - Formulación Amortiguadora 17

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	250 mM	14.61
Sacarosa	342.3	5 mM	1.71
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

10

15

Tabla 41 - Formulación Amortiguadora 18

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	50 mM	7.76
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

20

25

Tabla 42 - Formulación Amortiguadora 19

5

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	50 mM	7.76
NaCl	58.44	30 mM	1.75
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

10

Tabla 43 - Formulación Amortiguadora 20

15

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	50 mM	7.76
NaCl	58.44	60 mM	3.51
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 44 - Formulación Amortiguadora 21

20

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	50 mM	7.76
NaCl	58.44	80 mM	4.68
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

25

Tabla 45 - Formulación Amortiguadora 22

5

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	50 mM	7.76
NaCl	58.44	100 mM	5.84
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

10

Tabla 46 - Formulación Amortiguadora 23

15

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	50 mM	7.76
NaCl	58.44	120 mM	7.01
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

20

Tabla 47 - Formulación Amortiguadora 24

25

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	50 mM	7.76
NaCl	58.44	150 mM	8.77
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03

Agua purificada	agregar hasta 1 kg
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1

Tabla 48 - Formulación Amortiguadora 25

5	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	50 mM	7.76
	NaCl	58.44	180 mM	10.52
	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
10	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 49 - Formulación Amortiguadora 26

15	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	50 mM	7.76
	NaCl	58.44	200 mM	11.69
	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
20	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 50 - Formulación Amortiguadora 27

25	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	50 mM	7.76
	NaCl	58.44	225 mM	13.15

Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

5 **Tabla 51 - Formulación Amortiguadora 28**

	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	50 mM	7.76
	NaCl	58.44	250 mM	14.61
10	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 52 - Formulación Amortiguadora 29

15	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
20	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 53 - Formulación Amortiguadora 30

	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
25	Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58

NaCl	58.44	30 mM	1.75
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

5

Tabla 54 - Formulación Amortiguadora 31

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	60 mM	3.51
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

10

Tabla 55 - Formulación Amortiguadora 32

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	80 mM	4.68
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

15

20

25

Tabla 56 - Formulación Amortiguadora 33

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	100 mM	5.84
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 57 - Formulación Amortiguadora 34

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	120 mM	7.01
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 58 - Formulación Amortiguadora 35

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	154 mM	9
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 59 - Formulación Amortiguadora 36

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	180 mM	10.52
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 60 - Formulación Amortiguadora 37

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	200 mM	11.69
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 61 - Formulación Amortiguadora 38

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	225 mM	13.15
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 62 - Formulación Amortiguadora 39

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
Citrato de Na	258.07	10 mM	2.58
NaCl	58.44	250 mM	14.61
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 63 - Formulación Amortiguadora 40

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 64 - Formulación Amortiguadora 41

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	30 mM	1.75
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 65 - Formulación Amortiguadora 42

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	60 mM	3.51
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 66 - Formulación Amortiguadora 43

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	80 mM	4.68
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 67 - Formulación Amortiguadora 44

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	100 mM	5.84
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 68 - Formulación Amortiguadora 45

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	150 mM	8.77
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 69 - Formulación Amortiguadora 46

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	154 mM	9
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 70 - Formulación Amortiguadora 47

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	180 mM	10.52
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 71 - Formulación Amortiguadora 48

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	200 mM	11.69
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 72 - Formulación Amortiguadora 49

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	225 mM	13.15
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 73 - Formulación Amortiguadora 50

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
NaHCO ₃	84.007	20 mM	1.68
NaCl	58.44	250 mM	14.61
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo 7.0±0.1		

Tabla 74 - Formulación Amortiguadora 51

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
Glucosa	180.16	5 mM	0.9
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 75 - Formulación Amortiguadora 52

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	30 mM	1.75
Glucosa	180.16	5 mM	0.9
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 76 - Formulación Amortiguadora 53

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	60 mM	3.51
Glucosa	180.16	5 mM	0.9

Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

5 **Tabla 77 - Formulación Amortiguadora 54**

	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	10 mM	1.55
	NaCl	58.44	80 mM	4.68
10	Glucosa	180.16	5 mM	0.9
	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

15 **Tabla 78 - Formulación Amortiguadora 55**

	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	10 mM	1.55
	NaCl	58.44	100 mM	5.84
	Glucosa	180.16	5 mM	0.9
20	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 79 - Formulación Amortiguadora 56

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	120 mM	7.01
Glucosa	180.16	5 mM	0.9
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 80 - Formulación Amortiguadora 57

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	150 mM	8.77
Glucosa	180.16	5 mM	0.9
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 81 - Formulación Amortiguadora 58

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	180 mM	10.52
Glucosa	180.16	5 mM	0.9

Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

5 **Tabla 82 - Formulación Amortiguadora 59**

	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	10 mM	1.55
	NaCl	58.44	200 mM	11.69
10	Glucosa	180.16	5 mM	0.9
	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

15 **Tabla 83 - Formulación Amortiguadora 60**

	Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
	L-histidina	155.2	10 mM	1.55
	NaCl	58.44	225 mM	13.15
	Glucosa	180.16	5 mM	0.9
20	Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
	Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
	valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

Tabla 84 - Formulación Amortiguadora 61

Excipiente	PM [g/mol]	Concentración	g/kg amortiguador
L-histidina	155.2	10 mM	1.55
NaCl	58.44	250 mM	14.61
Glucosa	180.16	5 mM	0.9
Croda super refinado Tween 80	n.a.	0.003% (p/p)	0.03
Agua purificada	agregar hasta 1 kg		
valor de pH	objetivo: 7.0±0.1		

10 Todas las referencias, incluidas las publicaciones,
solicitudes de patente y patentes, citadas en este documento
se incorporan aquí como referencia en la misma medida que si
cada referencia se indicara individual y específicamente para
ser incorporada por referencia y se estableciera en su
15 totalidad en este documento.

Todos los métodos descritos en el presente documento
se pueden realizar en cualquier orden adecuado a menos que se
indique lo contrario en el presente documento o que el contexto
lo contradiga claramente de otro modo. El uso de todos y cada
20 uno de los ejemplos, o lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tal
como") proporcionado en este documento, está destinado
simplemente a iluminar mejor la descripción y no plantea una
limitación en el alcance de la descripción a menos que se
indique lo contrario. Ningún lenguaje en la descripción debe
25 interpretarse en el sentido de que indique algún elemento no

reivindicado como esencial para la práctica de la descripción.

En el presente documento se describen modalidades preferidas de esta descripción, incluyendo el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la descripción.

5 Las variaciones de esas modalidades preferidas pueden resultar evidentes para los expertos en la técnica al leer la descripción anterior. Los inventores esperan que los expertos en la materia empleen tales variaciones según sea apropiado, y los inventores pretenden que la descripción se lleve a la
10 práctica de una manera diferente a la descrita específicamente en el presente documento. Por consiguiente, esta descripción incluye todas las modificaciones y equivalentes de la materia de interés mencionada en las reivindicaciones adjuntas a la misma según lo permita la ley aplicable. Además, cualquier
15 combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las posibles variaciones de los mismos está incluida en la descripción a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente.

20

25