

REIVINDICACIONES

Se reivindica lo siguiente:

- 5 1. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótidos la cual comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una parte de extremo N de un polipéptido del factor VIII (FVIII) y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una parte de extremo C de un polipéptido del FVIII;
- 10 (a) donde la primera secuencia de ácido nucleico comprende:
- 15 (i) al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 de la SEQ ID NO: 3;
- 20 (ii) al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 de la SEQ ID NO: 4;
- 25 (iii) al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 de la SEQ ID NO: 5; o
- 30 (iv) al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 de la SEQ ID NO: 6;
- (b) donde la segunda secuencia de nucleótidos comprende:
- 35 (i) al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 2320-4374 de la SEQ ID NO: 3;

- (ii) al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 91%, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 2320-4374 de la SEQ ID NO: 4;

5

- (iii) al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 2320-4374 de la SEQ ID NO: 5; o

10

- (v) al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 2320-4374 de la SEQ ID NO: 6;

15

donde la parte de extremo N y la parte de extremo C juntas tienen una actividad polipeptídica de FVIII.

2. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FVIII, donde la secuencia de nucleótidos comprende:

20

- (i) al menos 91 % al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 1;

25

- (ii) al menos 94 % al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 2;

30

- (iii) al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 70;

35

- 5 (iv) al menos aproximadamente 92 %, al menos aproximadamente 93 %, al menos aproximadamente 94 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 3;
- 10 (v) al menos aproximadamente 91 %, al menos aproximadamente 92 %, al menos aproximadamente 93 %, al menos aproximadamente 94 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 4;
- 15 (vi) al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 5;
- 20 (vii) al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 6;
- 25
3. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FVIII, en donde la secuencia de nucleótidos comprende al menos 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 3.
- 30
4. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la secuencia de nucleótidos comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal, donde la secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal tiene al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a:
- 35

- 5
- (i) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 1;
 - (ii) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 2;
 - (iii) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 3;
 - (iv) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 4;
- 10
- (v) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 5;
 - (vi) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 6;
 - (vii) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 70;
- 15
- (viii) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 71; o
 - (ix) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 68.
- 20
5. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la molécula de ácido nucleico comprende una o más propiedades que se seleccionan del grupo que consiste en:
- 25
- (a) el índice de adaptación de codones humanos de la molécula de ácido nucleico o una parte de esta se incrementa con respecto a la SEQ ID NO: 16;
- 30
- (b) la frecuencia de codones óptimos de la secuencia de nucleótidos o una parte de esta se incrementa con respecto a la SEQ ID NO: 16;
 - (c) la secuencia de nucleótidos o una parte de esta contiene un porcentaje de nucleótidos de G/C más alto en comparación con el porcentaje de nucleótido de G/C en la SEQ ID NO: 16;
- 35
- (d) el uso de codones sinónimos relativos de la secuencia de nucleótidos o una parte de esta se incrementa con respecto a la SEQ ID NO: 16;

- (e) la cantidad eficaz de codones de la secuencia de nucleótidos o una parte de esta se reduce con respecto a la SEQ ID NO: 16;
- (f) la secuencia de nucleótidos contiene menos secuencias MARS/ARS (SEQ ID NO: 21 y 22) con respecto a la SEQ ID NO: 16;
- (g) la secuencia de nucleótidos contiene menos elementos desestabilizantes (SEQ ID NO: 23 y 24) con respecto a la SEQ ID NO: 16; y
- (h) cualquier combinación de ellos.
6. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una secuencia de aminoácidos heteróloga.
7. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 6, donde la secuencia de aminoácidos heteróloga es una región constante de inmunoglobulina o una parte de esta, XTEN, transferrina, albúmina o una secuencia PAS.
8. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 7, en donde la secuencia de nucleótidos comprende la SEQ ID NO: 19.
9. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, donde la secuencia de aminoácidos heteróloga está unida al extremo N o extremo C de la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos o está insertada entre dos aminoácidos en la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos en uno o más sitios de inserción seleccionados de la Tabla 3.
10. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el polipéptido del FVIII es un FVIII de longitud completa o un FVIII con dominio B eliminado.
11. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

12. El vector de la reivindicación 11, donde el vector es un vector lentiviral.

5 13. Una célula hospedadora que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o el vector de la reivindicación 11 o 12.

10 14. Un polipéptido FVIII producido por la célula hospedadora de la reivindicación 13.

15 15. Un método para producir un polipéptido con actividad de FVIII que comprende: cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 13 en condiciones en las cuales se produce un polipéptido con actividad de FVIII, y recuperar el polipéptido con actividad de FVIII.