

REIVINDICACIONES

Se reivindica lo siguiente:

5

1. 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 los nucleótidos 58-2277 y 2320-4374 de la SEQ ID NO: 3.

10

2. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 1, donde la secuencia de nucleótidos comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal, donde la secuencia de ácido nucleico codifica un péptido señal que comprende:

15

(i) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 1;

(ii) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 2;

20

(iii) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 3;

(iv) los nucleótidos 1 a 57 de la SEQ ID NO: 4;

25

(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;

30

(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.

35

3. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 2, donde la molécula de ácido nucleico comprende una o más propiedades que se seleccionan del grupo que consiste en:

- (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;
- 5
- (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;
- 10
- (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;
- 15
- (f) la secuencia de nucleótidos contiene menos secuencias regiones de unión a la matriz nuclear/secuencias de replicación autónoma MARS/ARS con respecto a la SEQ ID NO: 16;
- 20
- (g) la secuencia de nucleótidos contiene menos elementos desestabilizantes con respecto a la SEQ ID NO: 16; y
- (h) cualquier combinación de ellos.
- 25
4. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una secuencia de aminoácidos heteróloga.
- 30
5. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 4, donde la secuencia de aminoácidos heteróloga es una región constante de inmunoglobulina o una parte de esta, XTEN, transferrina, albúmina o una secuencia PAS.
- 35
6. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 5, en donde la secuencia de nucleótidos comprende la SEQ ID NO: 19.

7. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, 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, preferiblemente donde el sitio de inserción está inmediatamente corriente abajo del aminoácido 745 del FVIII humano maduro expuesto en SEQ ID NO: 15.
8. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el polipéptido del FVIII es un FVIII de longitud completa o un FVIII con dominio B eliminado.
9. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. El vector de la reivindicación 9, donde el vector es un vector lentiviral.
11. Una célula hospedadora que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o el vector de la reivindicación 9 o 10.
12. Un polipéptido FVIII producido por la célula hospedadora de la reivindicación 11.
13. Un método para producir un polipéptido con actividad de FVIII que comprende: cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 12 en condiciones en las cuales se produce un polipéptido con actividad de FVIII, y recuperar el polipéptido con actividad de FVIII.