

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico que comprende de la dirección 5' a 3':
 - (a) una primera repetición terminal invertida (ITR),
 - (b) un casete génico que comprende en orden: un promotor, una secuencia intrónica, una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína terapéutica, un elemento regulador post-transcripcional y una secuencia de cola poli(A) 3'UTR;
 - (c) una segunda ITR;en donde la primera ITR y/o la segunda ITR es una ITR de un virus no adenoasociado (VnoAA),
y
en donde la primera ITR y/o la segunda ITR comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 167-176; y
en donde la molécula de ácido nucleico es libre de cápside.
2. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 1, en donde la proteína terapéutica comprende un factor de coagulación.
3. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 1 o 2, en donde la primera ITR y/o la segunda ITR es derivada de parvovirus eritrovirus B19 (virus humano).
4. La molécula de ácido nucleico de las reivindicaciones 1 a 2, en donde la primera ITR y/o la segunda ITR es derivada de parvovirus de Ganso (GPV).
5. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la primera y/o segunda ITR es una ITR truncada, la cual comprende o consiste en un fragmento de una ITR que ocurre naturalmente, y retiene una propiedad funcional de la ITR que ocurre naturalmente.

6. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el promotor es un promotor específico de células .

7. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 6, en donde el promotor específico de células impulsa la expresión de la proteína terapéutica en hepatocitos, células endoteliales, células musculares, o células sinusoidales.

8. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 6 o 7, en donde el promotor se selecciona del grupo que consiste en un promotor de tiretina de ratón (mTTR), un promotor endógeno del factor VIII humano (F8), un promotor de alfa-1-antitripsina humana (hAAT), un promotor mínimo de albúmina humana, un promotor de albúmina de ratón, un promotor de tristetraprolina (TTP), un promotor CASI, un promotor CAG, un promotor de citomegalovirus (CMV), α 1-antitripsina (AAT), creatina quinasa muscular (MCK), miosina alfa de cadena pesada (α MHC), mioglobina (MB), desmina (DES), SPc5-12, 2R5Sc5-12, dMCK, tMCK y un promotor de fosfoglicerato quinasa (PGK).

9. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en donde el casete génico comprende además una secuencia potenciadora.

10. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 9, en donde:

(a) el promotor es un promotor TTP;

(b) el elemento regulador post-transcripcional comprende un elemento regulador post-transcripcional del virus mutado de la hepatitis de la marmota (WPRE), un sitio de unión a microARN, una secuencia de direccionamiento al núcleo de ADN, o cualquiera de sus combinaciones;

(c) la secuencia de cola poli(A) 3'UTR se selecciona del grupo que consiste en bGH poli(A), actina poli(A), hemoglobina poli(A) y cualquiera de sus combinaciones; o

(d) cualquier combinación de (a) - (c).

11. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 10, en donde:

- (a) la secuencia intrónica comprende SEQ ID NO: 115;
- (b) el sitio de unión de microARN comprende un sitio de unión a miR142-3p;
- (c) la secuencia de cola poli(A) 3'UTR comprende bGH poli(A); o
- (d) cualquier combinación de (a) - (c).

12. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11, en donde la molécula de ácido nucleico comprende en este orden:

- (a) la primera ITR;
- (b) un promotor TTP;
- (c) un intrón sintético;
- (d) una secuencia de nucleótidos, que codifica un factor de coagulación;
- (e) un elemento regulador post-transcripcional, que comprende WPRE;
- (f) una secuencia de cola poli(A) 3'UTR, que comprende bGHpA; y
- (g) la segunda ITR.

13. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 12, en donde el factor de coagulación comprende factor I (FI), factor II (FII), factor V (FV), factor VII (FVII), factor VIII (FVIII), factor IX (FIX), factor X (FX), factor XI (FXI), factor XII (FXII), factor XIII (FVIII), factor Von Willebrand (VWF), precalicreína, quinínógeno de alto peso molecular, fibronectina, antitrombina III, cofactor de heparina II, proteína C, proteína S, proteína Z, inhibidor de la proteasa relacionada con la proteína Z (ZPI), plasminógeno, alfa 2-antiplasmina, activador del plasminógeno tisular (tPA), uroquinasa, inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), inhibidor del activador de plasminógeno-2 (PAI2), o cualquiera de sus combinaciones.

14. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 13, en donde el FVIII comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 103, 106, y 109.

15. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 14, en donde el factor de coagulación comprende un resto heterólogo seleccionado del grupo que consiste en albúmina o un fragmento de la misma, una región Fc de inmunoglobulina, el péptido C-terminal (CTP) de la Subunidad β de gonadotropina coriónica humana, una secuencia PAS, una secuencia HAP, una transferrina o un fragmento de la misma, un resto de unión a albúmina, un derivado de la misma, o cualquiera de sus combinaciones.

16. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 13-15, en donde el FVIII comprende además una pareja de unión a FcRn.

17. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en donde la molécula de ácido nucleico está formulada en combinación con un agente que comprende una nanopartícula lipídica.

18. Una composición farmacéutica que comprende la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.