

REIVINDICACIONES

1. Un vector lentiviral para uso en la prevención o tratamiento de la hemofilia en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una dosis efectiva de un vector lentiviral que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de factor IX (FIX), en donde el vector lentiviral se empaqueta en células HEK293T que sobreexpresan CD47 que comprenden un nivel mayor de expresión de la proteína CD47 en la superficie que un vector lentiviral control producido en células HEK293T no modificadas (ATCC® CRL-11268™), y en donde la dosis efectiva se reduce en relación a una dosis control del vector lentiviral control necesaria para inducir la misma actividad de FIX que el vector lentiviral.

2. El vector de la reivindicación 1, en donde:

el vector lentiviral control comprende 19 moléculas/ μm^2 de CD47 en la superficie del vector lentiviral control.

el vector lentiviral comprende 1,5 veces, 2,0 veces, 2,5 veces, 3,0 veces, 3,5 veces, 4,0 veces, 4,5 veces, 5,0 veces, 5,5 veces, 6,0 veces, 6,5 veces, 7,0 veces, 7,5 veces, 8,0 veces, 8,5 veces, 9,0 veces, 9,5 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 35 veces, o 40 veces más de proteína CD47 en la superficie del vector lentiviral que el vector lentiviral control producido en células HEK293T (ATCC® CRL- 11268™); y/o

la CD47 es una CD47 humana, en donde opcionalmente la CD47 humana comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, o un 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 14.

3. El vector de la reivindicación 1, en donde:

la dosis efectiva es menos de 5×10^{10} unidades de transducción/kg (TU/kg), menos de 4×10^{10} TU/kg, menos de 3×10^{10} TU/kg, menos de 2×10^{10} TU/kg, menos de 1×10^{10} TU/kg, menos de 9×10^9 TU/kg, menos de 8×10^9 TU/kg, menos de 7×10^9 TU/kg, menos de 6×10^9 TU/kg, menos de 5×10^9 TU/kg, menos de 4×10^9 TU/kg, menos de 3×10^9 TU/kg, menos de 2×10^9 TU/kg menos de 1×10^9 TU/kg, menos de 9×10^8 TU/kg, o menos de 8×10^8 TU/kg;

el sujeto presenta uno o más de las siguientes propiedades después de la administración:

(a) una transducción disminuida de macrófagos del vector lentiviral en relación con el vector lentiviral control;

(b) una respuesta inmune aloespecífica reducida frente al vector lentiviral en relación con el vector lentiviral control; opcionalmente en donde la respuesta inmune aloespecífica comprende la liberación de una citoquina en respuesta con el vector lentiviral, en donde la citoquina se selecciona del grupo que consiste en MIP-1a, MIP-1b, MCP-1, y cualquier combinación de las mismas;

(c) una actividad de FIX de al menos un 30%, en relación con la actividad de FIX normal al menos 3 semanas después de la administración;

(d) una expresión específica de tejido del vector lentiviral en el hígado, bazo, o tanto en el hígado como el bazo; y

(e) cualquier combinación de (a)-(d);

el sujeto presenta un nivel menos de expresión de MIP-1a después de la administración del vector lentiviral en relación con la expresión de MIP-1a después de la administración del vector lentiviral control;

el sujeto presenta un nivel menos de expresión de MIP-1b después de la administración del vector lentiviral en relación con la expresión de MIP-1b después de la administración del vector lentiviral control;

el sujeto presenta un nivel menos de expresión de MCP-1 después de la administración del vector lentiviral en relación con la expresión de MCP-1

después de la administración del vector lentiviral control;
el sujeto presenta una actividad de FIX de al menos un 75%, al menos un 100%, al menos un 125%, al menos un 150%, al menos un 175%, al menos un 200%, al menos un 225%, al menos un 250%, al menos un 275%, o al menos un 300%, en relación con la actividad de FIX normal, al menos tres semanas después de la administración del vector lentiviral;
el sujeto presenta una actividad de FIX de al menos un 150%, en relación con la actividad de FIX normal, al menos tres semanas después de la administración del vector lentiviral; y/o
el sujeto presenta una localización incrementada del vector lentiviral en el hígado, bazo, o tanto en el hígado como el bazo después de la administración del vector lentiviral, en relación con un órgano distinto del hígado y el bazo en el sujeto, en donde:

la localización incrementada se caracteriza por un número de copias del vector (VCN) del vector lentiviral que es 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 35 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces, 110 veces, 120 veces, 130 veces, 140 veces, 150 veces, 160 veces, 170 veces, 180 veces, 190 veces, o 200 veces mayor en el hígado, bazo, o tanto en el hígado como el bazo después de la administración del vector lentiviral, en relación con un órgano distinto del hígado y el bazo en el sujeto;

la localización incrementada se caracteriza por un VCN del vector lentiviral que es 10 veces mayor en el hígado, bazo, o tanto en el hígado como el bazo después de la administración del vector lentiviral, en relación con un órgano distinto del hígado y el bazo en el sujeto;

la localización incrementada se caracteriza por un VCN del vector lentiviral que es al menos 50 veces mayor en el hígado, bazo, o tanto en el hígado como el bazo después de la administración del vector lentiviral, en relación con un órgano distinto del hígado y el bazo en el sujeto; y/o

la localización incrementada se caracteriza por un VCN del vector

lentiviral que es 100 veces mayor en el hígado, bazo o tanto en el hígado como el bazo después de la administración del vector lentiviral, en relación con un órgano distinto del hígado y el bazo en el sujeto.

4. El vector de la reivindicación 1, en donde la actividad de FIX plasmática a las 24 horas a 48 horas después de la administración del vector lentiviral se incrementa en relación con un sujeto al que se le administra la dosis control del vector lentiviral control, en donde la actividad de FIX plasmática se incrementa después de la administración en 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 35 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces, 110 veces, 120 veces, 130 veces, 140 veces, 150 veces, 160 veces, 170 veces, 180 veces, 190 veces, o 200 veces, en relación con un sujeto al que se le administra la dosis control del vector lentiviral control.

5. El vector de la reivindicación 1, en donde:
el vector lentiviral no comprende un polipéptido MHC-I; y/o
el vector lentiviral se produce en una célula huésped que expresa una alta concentración de la CD47 en comparación con las células HEK293T (ATCC® CRL-11268™).

6. El vector de la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, o un 100% de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, o SEQ ID NO: 7.

7. Un vector lentiviral para uso en la prevención o tratamiento de la hemofilia en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto menos de 5×10^{10} unidades de transducción/kg (TU/kg) de un vector lentiviral que

comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de factor IX (FIX), en donde el vector lentiviral comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, o un 100% de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, o SEQ ID NO: 7.

8. El vector de la reivindicación 1, en donde:
 - la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 1;
 - la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 2;
 - la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 3;
 - la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 4;
 - la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 5;
 - la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 6; y/o
 - la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 7.

9. El vector de la reivindicación 1, en donde:

la dosis es 5×10^{10} TU/kg, $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 4×10^{10} TU/kg, $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 3×10^{10} TU/kg, $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 2×10^{10} TU/kg, $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 1×10^{10} TU/kg, $9,5 \times 10^9$ TU/kg, 9×10^9 TU/kg, $8,5 \times 10^9$ TU/kg, 8×10^9 TU/kg, $7,5 \times 10^9$ TU/kg, 7×10^9 TU/kg, $6,5 \times 10^9$ TU/kg, 6×10^9 TU/kg, $5,5 \times 10^9$ TU/kg, 5×10^9 TU/kg, $4,5 \times 10^9$ TU/kg, 4×10^9 TU/kg, $3,5 \times 10^9$ TU/kg, 3×10^9 TU/kg, $2,5 \times 10^9$ TU/kg, 2×10^9 TU/kg, $1,5 \times 10^9$ TU/kg, 1×10^9 TU/kg, $9,5 \times 10^8$ TU/kg, 9×10^8 TU/kg, $8,5 \times 10^8$ TU/kg, 8×10^8 TU/kg, $7,5 \times 10^8$ TU/kg, 7×10^8 TU/kg, $6,5 \times 10^8$ TU/kg, 6×10^8 TU/kg, $5,5 \times 10^8$ TU/kg, 5×10^8 TU/kg, $4,5 \times 10^8$ TU/kg, 4×10^8 TU/kg, $3,5 \times 10^8$ TU/kg, 3×10^8 TU/kg, $2,5 \times 10^8$ TU/kg, 2×10^8 TU/kg, $1,5 \times 10^8$ TU/kg, o 1×10^8 TU/kg;

la dosis es menos de 5×10^{10} TU/kg, menos de $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 4×10^{10} TU/kg, menos de $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 3×10^{10} TU/kg, menos de $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 2×10^{10} TU/kg, menos de $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 1×10^{10} TU/kg, menos de $9,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 9×10^9 TU/kg, menos de $8,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 8×10^9 TU/kg, menos de $7,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 7×10^9 TU/kg, menos de $6,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 6×10^9 TU/kg, menos de $5,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 5×10^9 TU/kg, menos de $4,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 4×10^9 TU/kg, menos de $3,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 3×10^9 TU/kg, menos de $2,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 2×10^9 TU/kg, menos de $1,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 1×10^9 TU/kg, menos de $9,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 9×10^8 TU/kg, menos de $8,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 8×10^8 TU/kg, menos de $7,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 7×10^8 TU/kg, menos de $6,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 6×10^8 TU/kg, menos de $5,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 5×10^8 TU/kg, menos de $4,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 4×10^8 TU/kg, menos de $3,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 3×10^8 TU/kg, menos de $2,5 \times 10^8$ TU/kg,

menos de 2×10^8 TU/kg, menos de $1,5 \times 10^8$ TU/kg, o menos de 1×10^8 TU/kg;

la dosis es entre 1×10^8 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^8 y 5×10^9 TU/kg, entre 1×10^8 y 1×10^9 TU/kg, entre 1×10^8 y 1×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 2×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 3×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 4×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 5×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 2×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 3×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 4×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 5×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 6×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 7×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, 8×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 9×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $1,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 2×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $2,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 3×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $3,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 4×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, o entre $4,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg;

la dosis es entre 1×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 4×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 3×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 2×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y 9×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 8×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 7×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 5×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 4×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 3×10^9 TU/kg, y entre 1×10^9 y 2×10^9 TU/kg;

la dosis es entre 1×10^{10} y 2×10^{10} TU/kg, entre $1,1 \times 10^{10}$ y $1,9 \times 10^{10}$ TU/kg, entre $1,2 \times 10^{10}$ y $1,8 \times 10^{10}$ TU/kg, entre $1,3 \times 10^{10}$ y $1,7 \times 10^{10}$ TU/kg, o entre $1,4 \times 10^{10}$ y $1,6 \times 10^{10}$ TU/kg;

la dosis es entre 4×10^9 TU/kg y 6×10^9 TU/kg;

la dosis del vector lentiviral se administra en una vez o dividida en al menos dos subdosis; y/o

la dosis del vector lentiviral se repite al menos dos veces.

10. El vector de la reivindicación 1, en donde
el vector lentiviral se administra como una dosis única o dosis múltiples;
el vector lentiviral se administra mediante inyección intravenosa;
el vector lentiviral comprende un promotor específico de tejido,
opcionalmente en donde el promotor específico de tejido aumenta
selectivamente la expresión del polipéptido con actividad de FIX en una
célula hepática diana, en donde:

el promotor específico de tejido comprende un promotor de
APOA2, promotor de SERPINA1 (hAAT), promotor de mTTR, promotor de
MIR122, o cualquier combinación de los mismos; y/o

la célula hepática diana es un hepatocito, opcionalmente en
donde la molécula de ácido nucleico aislada se integra de manera estable
en el genoma del hepatocito;

el vector lentiviral comprende un sitio donante de corte y empalme;

el vector lentiviral comprende un sitio aceptor de corte y empalme;

el vector lentiviral comprende una secuencia gag, una secuencia pol, una
secuencia rev, un elemento de respuesta rev (RRE), o cualquier
combinación de los mismos, en donde la secuencia gag es una secuencia
gag de longitud completa o truncada;

el vector lentiviral comprende un potenciador, una secuencia diana para un
microARN, un elemento regulador postranscripcional, una señal de
empaquetamiento, una secuencia poli-A, una secuencia intrónica, o
cualquier combinación de los mismos; y/o

el vector lentiviral se produce en una célula huésped, en donde:

la célula huésped expresa CD47 o la célula huésped se
modifica para sobreexpresar CD47, y/o en donde la célula huésped no
expresa MHC-I;

la célula huésped es CD47^{alta}/MHC-I⁻; y/o

la célula huésped es una célula HEK 293T CD47^{alta}/MHC-I⁻.

11. El vector de la reivindicación 1, en donde el sujeto:
es un sujeto pediátrico;
es un sujeto adulto; o
es un sujeto adolescente.

12. El vector de la reivindicación 1, en donde:
el polipéptido con actividad de FIX comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 12;
el polipéptido con actividad de FIX comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 12;
la secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FIX comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal, en donde la secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal tiene al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, o un 100% de identidad de secuencia con:

- (i) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 2;
- (ii) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 3;
- (iii) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 4;
- (iv) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 5;
- (v) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 6; o
- (vi) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 7;

la secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FIX comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica un propéptido, en donde la secuencia de ácido nucleico que codifica un propéptido tiene al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, o un 100% de identidad de secuencia con:

- (i) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 2;
- (ii) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 3;
- (iii) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 4;
- (iv) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 5;
- (v) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 6; o
- (vi) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 7;

la secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FIX comprende además una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una secuencia de aminoácidos heteróloga, en donde:

la secuencia de aminoácidos heteróloga es una albúmina, una región Fc de inmunoglobulina, una secuencia XTEN, el péptido C-terminal (CTP) de la subunidad β de la gonadotropina coriónica humana, una secuencia PAS, una secuencia HAP, una secuencia de péptido CTP, una transferrina, un resto de unión a albúmina, o cualesquiera fragmentos, derivados, variantes, o combinaciones de estos polipéptidos;

la secuencia de aminoácidos heteróloga está unida al extremo N o al extremo C de la secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FIX o insertada entre dos aminoácidos en la secuencia de aminoácidos; y/o

la secuencia de aminoácidos heteróloga se inserta en el polipéptido con actividad de FIX inmediatamente aguas abajo de un aminoácido correspondiente al aminoácido 103 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 105 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 142 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 149 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 162 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 166 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 174 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 224 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 226 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 228 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 413 de la SEQ ID NO: 2, o cualquier combinación de los mismos; y/o

el polipéptido FIX es una variante R338L del polipéptido FIX.

13. Un vector lentiviral que comprende:
una secuencia de nucleótidos que comprende (i) un promotor específico de tejido, y (ii) una secuencia de ácido nucleico como se muestra en la SEQ ID NO: 1, en donde el promotor específico de tejido dirige la expresión de la secuencia de ácido nucleico en una célula hepática; o
una secuencia de nucleótidos que comprende (i) un sitio donante de corte y empalme; (ii) un sitio aceptor de corte y empalme; (iii) una secuencia gag; (iv) un elemento de respuesta Rev; (v) un potenciador; (vi) un elemento regulador postranscripcional, (vii) una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, o un 100% de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, o SEQ ID NO: 7, y (viii) una secuencia diana para un microARN.

14. El vector de la reivindicación 13, en donde la secuencia de ácido nucleico codifica un polipéptido con actividad de FIX, que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 12; y/o
la superficie del vector lentiviral comprende un nivel mayor de proteína CD47 que un vector lentiviral control producido en células HEK293T (ATCC® CRL-11268™), opcionalmente en donde la superficie del vector lentiviral no comprende MHC-I.

15. El vector lentiviral para usar en un método para tratar la hemofilia en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una dosis efectiva del vector de la reivindicación 13, en donde:

la dosis efectiva es menos de 5×10^{10} unidades de transducción/kg (TU/kg), menos de 4×10^{10} TU/kg, menos de 3×10^{10} TU/kg, menos de 2×10^{10} TU/kg, menos de 1×10^{10} TU/kg, menos de 9×10^9 TU/kg, menos de 8×10^9

TU/kg, menos de 7×10^9 TU/kg, menos de 6×10^9 TU/kg, menos de 5×10^9 TU/kg, menos de 4×10^9 TU/kg, menos de 3×10^9 TU/kg, menos de 2×10^9 TU/kg, menos de 1×10^9 TU/kg, menos de 9×10^8 TU/kg, o menos de 8×10^8 TU/kg;

la dosis efectiva es 5×10^{10} TU/kg, $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 4×10^{10} TU/kg, $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 3×10^{10} TU/kg, $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 2×10^{10} TU/kg, $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 1×10^{10} TU/kg, $9,5 \times 10^9$ TU/kg, 9×10^9 TU/kg, $8,5 \times 10^9$ TU/kg, 8×10^9 TU/kg, $7,5 \times 10^9$ TU/kg, 7×10^9 TU/kg, $6,5 \times 10^9$ TU/kg, 6×10^9 TU/kg, $5,5 \times 10^9$ TU/kg, 5×10^9 TU/kg, $4,5 \times 10^9$ TU/kg, 4×10^9 TU/kg, $3,5 \times 10^9$ TU/kg, 3×10^9 TU/kg, $2,5 \times 10^9$ TU/kg, 2×10^9 TU/kg, $1,5 \times 10^9$ TU/kg, 1×10^9 TU/kg, $9,5 \times 10^8$ TU/kg, 9×10^8 TU/kg, $8,5 \times 10^8$ TU/kg, 8×10^8 TU/kg, $7,5 \times 10^8$ TU/kg, 7×10^8 TU/kg, $6,5 \times 10^8$ TU/kg, 6×10^8 TU/kg, $5,5 \times 10^8$ TU/kg, 5×10^8 TU/kg, $4,5 \times 10^8$ TU/kg, 4×10^8 TU/kg, $3,5 \times 10^8$ TU/kg, 3×10^8 TU/kg, $2,5 \times 10^8$ TU/kg, 2×10^8 TU/kg, $1,5 \times 10^8$ TU/kg, o 1×10^8 TU/kg;

la dosis efectiva es menos de 5×10^{10} TU/kg, menos de $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 4×10^{10} TU/kg, menos de $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 3×10^{10} TU/kg, menos de $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 2×10^{10} TU/kg, menos de $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 1×10^{10} TU/kg, menos de $9,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 9×10^9 TU/kg, menos de $8,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 8×10^9 TU/kg, menos de $7,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 7×10^9 TU/kg, menos de $6,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 6×10^9 TU/kg, menos de $5,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 5×10^9 TU/kg, menos de $4,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 4×10^9 TU/kg, menos de $3,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 3×10^9 TU/kg, menos de $2,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 2×10^9 TU/kg, menos de $1,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 1×10^9 TU/kg, menos de $9,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 9×10^8 TU/kg, menos de $8,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 8×10^8 TU/kg, menos de $7,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 7×10^8 TU/kg, menos

de $6,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 6×10^8 TU/kg, menos de $5,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 5×10^8 TU/kg, menos de $4,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 4×10^8 TU/kg, menos de $3,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 3×10^8 TU/kg, menos de $2,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 2×10^8 TU/kg, menos de $1,5 \times 10^8$ TU/kg, o menos de 1×10^8 TU/kg;

la dosis efectiva es entre 1×10^8 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^8 y 5×10^9 TU/kg, entre 1×10^8 y 1×10^9 TU/kg, entre 1×10^8 y 1×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 2×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 3×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 4×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 5×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 2×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 3×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 4×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 5×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 6×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 7×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, 8×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 9×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $1,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 2×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $2,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 3×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $3,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 4×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, o entre $4,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg;

la dosis efectiva es entre 1×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 4×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 3×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 2×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y 9×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 8×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 7×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 5×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 4×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 3×10^9 TU/kg, y entre 1×10^9 y 2×10^9 TU/kg;

la dosis efectiva es entre 1×10^{10} y 2×10^{10} TU/kg, entre $1,1 \times 10^{10}$ y $1,9 \times 10^{10}$ TU/kg, entre $1,2 \times 10^{10}$ y $1,8 \times 10^{10}$ TU/kg, entre $1,3 \times 10^{10}$ y

$1,7 \times 10^{10}$ TU/kg, o entre $1,4 \times 10^{10}$ y $1,6 \times 10^{10}$ TU/kg;
la dosis efectiva es entre 4×10^9 TU/kg y 6×10^9 TU/kg;
el vector lentiviral se administra como una dosis única o dosis múltiples;
el vector lentiviral se administra mediante inyección intravenosa;
el sujeto es un sujeto pediátrico; y/o
el sujeto es un sujeto adulto.

16. Una secuencia de ácido nucleico o vector que comprende la secuencia de nucleótidos como se muestra en la SEQ ID NO: 1.

17. El vector de la reivindicación 16, que comprende además:
un promotor específico de tejido, en donde el promotor específico de tejido aumenta selectivamente la expresión del polipéptido con actividad de FIX en una célula hepática diana, opcionalmente en donde el promotor específico de tejido comprende un promotor de APOA2, promotor de SERPINA1 (hAAT), promotor de mTTR, promotor de MIR122, o cualquier combinación de los mismos, y/o la célula hepática diana es un hepatocito;
un sitio donante de corte y empalme;
un sitio aceptor de corte y empalme;
una secuencia gag, una secuencia pol, una secuencia rev, un elemento de respuesta rev (RRE), o cualquier combinación de los mismos, en donde la secuencia gag es una secuencia gag de longitud completa o truncada; y/o
un potenciador, una secuencia diana para un microARN, un elemento regulador postranscripcional, una señal de empaquetamiento, una secuencia poli-A, una secuencia intrónica, o cualquier combinación de los mismos.

18. Una célula que comprende la secuencia de ácido nucleico o vector de la reivindicación 16, en donde:
la célula es una célula de mamífero;

la célula es una célula CHO, una célula HEK293, una célula BHK21, una célula PER.C6®, una célula NS0, y una célula CAP; o
la célula es una célula humana.

19. La célula de la reivindicación 18, en donde la célula expresa una proteína CD47, en donde la célula se modifica para sobreexpresar CD47, en donde:

la célula comprende 1,5 veces, 2,0 veces, 2,5 veces, 3,0 veces, 3,5 veces, 4,0 veces, 4,5 veces, 5,0 veces, 5,5 veces, 6,0 veces, 6,5 veces, 7,0 veces, 7,5 veces, 8,0 veces, 8,5 veces, 9,0 veces, 9,5 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 35 veces, o 40 veces más de proteína CD47 en la superficie de la célula en comparación con una célula control que no se modifica para sobreexpresar CD47;

la CD47 es una CD47 humana; y/o

la célula no expresa MHC-I.

20. Un método para producir un vector lentiviral que comprende cultivar, bajo condiciones adecuadas, la célula de la reivindicación 19.

21. El vector de la reivindicación 7, en donde:

la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 1;

la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 2;

la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 3;

la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos

mostrada en la SEQ ID NO: 4;

la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 5;

la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 6; y/o

la secuencia de nucleótidos tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con los nucleótidos 139-1386 de la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ ID NO: 7.

22. El vector de la reivindicación 7, en donde:

la dosis es 5×10^{10} TU/kg, $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 4×10^{10} TU/kg, $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 3×10^{10} TU/kg, $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 2×10^{10} TU/kg, $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, 1×10^{10} TU/kg, $9,5 \times 10^9$ TU/kg, 9×10^9 TU/kg, $8,5 \times 10^9$ TU/kg, 8×10^9 TU/kg, $7,5 \times 10^9$ TU/kg, 7×10^9 TU/kg, $6,5 \times 10^9$ TU/kg, 6×10^9 TU/kg, $5,5 \times 10^9$ TU/kg, 5×10^9 TU/kg, $4,5 \times 10^9$ TU/kg, 4×10^9 TU/kg, $3,5 \times 10^9$ TU/kg, 3×10^9 TU/kg, $2,5 \times 10^9$ TU/kg, 2×10^9 TU/kg, $1,5 \times 10^9$ TU/kg, 1×10^9 TU/kg, $9,5 \times 10^8$ TU/kg, 9×10^8 TU/kg, $8,5 \times 10^8$ TU/kg, 8×10^8 TU/kg, $7,5 \times 10^8$ TU/kg, 7×10^8 TU/kg, $6,5 \times 10^8$ TU/kg, 6×10^8 TU/kg, $5,5 \times 10^8$ TU/kg, 5×10^8 TU/kg, $4,5 \times 10^8$ TU/kg, 4×10^8 TU/kg, $3,5 \times 10^8$ TU/kg, 3×10^8 TU/kg, $2,5 \times 10^8$ TU/kg, 2×10^8 TU/kg, $1,5 \times 10^8$ TU/kg, o 1×10^8 TU/kg;

la dosis es menos de 5×10^{10} TU/kg, menos de $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 4×10^{10} TU/kg, menos de $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 3×10^{10} TU/kg, menos de $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 2×10^{10} TU/kg, menos de $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, menos de 1×10^{10} TU/kg, menos de $9,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 9×10^9 TU/kg, menos de $8,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 8×10^9 TU/kg, menos de $7,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 7×10^9 TU/kg, menos de $6,5 \times 10^9$ TU/kg, menos

de 6×10^9 TU/kg, menos de $5,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 5×10^9 TU/kg, menos de $4,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 4×10^9 TU/kg, menos de $3,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 3×10^9 TU/kg, menos de $2,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 2×10^9 TU/kg, menos de $1,5 \times 10^9$ TU/kg, menos de 1×10^9 TU/kg, menos de $9,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 9×10^8 TU/kg, menos de $8,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 8×10^8 TU/kg, menos de $7,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 7×10^8 TU/kg, menos de $6,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 6×10^8 TU/kg, menos de $5,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 5×10^8 TU/kg, menos de $4,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 4×10^8 TU/kg, menos de $3,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 3×10^8 TU/kg, menos de $2,5 \times 10^8$ TU/kg, menos de 2×10^8 TU/kg, menos de $1,5 \times 10^8$ TU/kg, o menos de 1×10^8 TU/kg;

la dosis es entre 1×10^8 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^8 y 5×10^9 TU/kg, entre 1×10^8 y 1×10^9 TU/kg, entre 1×10^8 y 1×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 2×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 3×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 4×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 5×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 2×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 3×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 4×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 5×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 6×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 7×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, 8×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 9×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $1,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 2×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $2,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 3×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, entre $3,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg, entre 4×10^{10} y 5×10^{10} TU/kg, o entre $4,5 \times 10^{10}$ y 5×10^{10} TU/kg;

la dosis es entre 1×10^9 y 5×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $4,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 4×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $3,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 3×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $2,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 2×10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y $1,5 \times 10^{10}$ TU/kg, entre 1×10^9 y 10^{10} TU/kg, entre 1×10^9 y

9×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 8×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 7×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 6×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 5×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 4×10^9 TU/kg, entre 1×10^9 y 3×10^9 TU/kg, y entre 1×10^9 y 2×10^9 TU/kg;

la dosis es entre 1×10^{10} y 2×10^{10} TU/kg, entre $1,1 \times 10^{10}$ y $1,9 \times 10^{10}$ TU/kg, entre $1,2 \times 10^{10}$ y $1,8 \times 10^{10}$ TU/kg, entre $1,3 \times 10^{10}$ y $1,7 \times 10^{10}$ TU/kg, o entre $1,4 \times 10^{10}$ y $1,6 \times 10^{10}$ TU/kg;

la dosis es entre 4×10^9 TU/kg y 6×10^9 TU/kg;

la dosis del vector lentiviral se administra en una vez o dividida en al menos dos subdosis; y/o

la dosis del vector lentiviral se repite al menos dos veces.

23. El vector de la reivindicación 7, en donde:

el vector lentiviral se administra como una dosis única o dosis múltiples;

el vector lentiviral se administra mediante inyección intravenosa;

el vector lentiviral comprende un promotor específico de tejido, opcionalmente en donde el promotor específico de tejido aumenta selectivamente la expresión del polipéptido con actividad de FIX en una célula hepática diana, en donde:

el promotor específico de tejido comprende un promotor de APOA2, promotor de SERPINA1 (hAAT), promotor de mTTR, promotor de MIR122, o cualquier combinación de los mismos; y/o

la célula hepática diana es un hepatocito, opcionalmente en donde la molécula de ácido nucleico aislada se integra de manera estable en el genoma del hepatocito;

el vector lentiviral comprende un sitio donante de corte y empalme;

el vector lentiviral comprende un sitio aceptor de corte y empalme;

el vector lentiviral comprende una secuencia gag, una secuencia pol, una secuencia rev, un elemento de respuesta rev (RRE), o cualquier combinación de los mismos, en donde la secuencia gag es una secuencia gag de longitud completa o truncada;

el vector lentiviral comprende un potenciador, una secuencia diana para un microARN, un elemento regulador postranscripcional, una señal de empaquetamiento, una secuencia poli-A, una secuencia intrónica, o cualquier combinación de los mismos; y/o

el vector lentiviral se produce en una célula huésped, en donde:

la célula huésped expresa CD47 o la célula huésped se modifica para sobreexpresar CD47, y/o en donde la célula huésped no expresa MHC-I;

la célula huésped es CD47^{alta}/MHC-I⁻; y/o

la célula huésped es una célula HEK 293T CD47^{alta}/MHC-I⁻.

24. El vector de la reivindicación 7, en donde el sujeto:
es un sujeto pediátrico;
es un sujeto adulto; o
es un sujeto adolescente.

25. El vector de la reivindicación 7, en donde:
el polipéptido con actividad de FIX comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 12;
la secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FIX comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal, en donde la secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal tiene al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, o un 100% de identidad de secuencia con:

- (i) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 2;
- (ii) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 3;
- (iii) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 4;
- (iv) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 5;

- (v) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 6; o
- (vi) los nucleótidos 1-84 de la SEQ ID NO: 7;

la secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FIX comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica un propéptido, en donde la secuencia de ácido nucleico que codifica un propéptido tiene al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, o un 100% de identidad de secuencia con:

- (i) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 2;
- (ii) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 3;
- (iii) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 4;
- (iv) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 5;
- (v) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 6; o
- (vi) los nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 7;

la secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FIX comprende además una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una secuencia de aminoácidos heteróloga, en donde:

la secuencia de aminoácidos heteróloga es una albúmina, una región Fc de inmunoglobulina, una secuencia XTEN, el péptido C-terminal (CTP) de la subunidad β de la gonadotropina coriónica humana, una secuencia PAS, una secuencia HAP, una secuencia de péptido CTP, una transferrina, un resto de unión a albúmina, o cualesquiera fragmentos, derivados, variantes, o combinaciones de estos polipéptidos;

la secuencia de aminoácidos heteróloga está unida al extremo N o al extremo C de la secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido con actividad de FIX o insertada entre dos aminoácidos en la secuencia de aminoácidos; y/o

la secuencia de aminoácidos heteróloga se inserta en el polipéptido con

actividad de FIX inmediatamente aguas abajo de un aminoácido correspondiente al aminoácido 103 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 105 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 142 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 149 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 162 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 166 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 174 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 224 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 226 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 228 de la SEQ ID NO: 2, aminoácido 413 de la SEQ ID NO: 2, o cualquier combinación de los mismos; y/o el polipéptido FIX es una variante R338L del polipéptido FIX.