

REIVINDICACIONES

1. Una partícula de vector lentiviral que comprende:

una secuencia de nucleótidos que comprende (i) un promotor específico de tejido, y (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido con actividad de factor IX (FIX), en donde la secuencia de ácido nucleico comprende la SEQ ID NO: 1, en donde el promotor específico de tejido dirige la expresión del polipéptido con actividad de factor IX (FIX) en una célula hepática; y

una cubierta lipídica que comprende una alta concentración de polipéptido CD47.

2. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 1, en donde el polipéptido con actividad FIX comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 12.

3. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 1 o 2, en donde la cubierta lipídica no comprende un polipéptido MHC-I.

4. La partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la secuencia de nucleótidos comprende además

(i) un sitio donante de empalme;

(ii) un sitio aceptor de empalme;

(iii) una secuencia gag, una secuencia pol, una secuencia rev, un elemento sensible a rev (RRE), o cualquier combinación de los mismos; y/o

(iv) 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.

5. La partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4,
en donde el promotor específico de tejido mejora selectivamente la expresión del polipéptido con actividad FIX en una célula hepática diana, y
en donde el promotor específico de tejido comprende un promotor APOA2, un promotor SERPINA1 (hAAT), un promotor mTTR, un promotor MIR122, o cualquier combinación de los mismos.
6. La partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la secuencia gag es una secuencia gag completa o truncada.
7. La partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la secuencia de nucleótidos comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica un propéptido.
8. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 7, en donde la secuencia de ácido nucleico que codifica un propéptido comprende:
 - (i) nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 2;
 - (ii) nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 3;
 - (iii) nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 4;
 - (iv) nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 5;
 - (v) nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 6; o
 - (vi) nucleótidos 85-138 de la SEQ ID NO: 7.
9. La partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la secuencia de nucleótidos comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal.
10. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 9, en donde la secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido señal comprende:

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

11. La partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido con actividad FIX comprende además una secuencia de nucleótidos heteróloga que codifica una secuencia de aminoácidos heteróloga.
12. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 11, 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 peptídica CTP, una transferrina, un resto de unión a albúmina o cualquier fragmento, derivado, variante o combinación de estos polipéptidos.
13. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 11 o 12, en donde la secuencia de aminoácidos heteróloga está unida al extremo N o al extremo C del polipéptido con actividad FIX o insertada entre dos residuos de aminoácidos en el polipéptido con actividad FIX.
14. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 13, en donde la secuencia de aminoácidos heteróloga se inserta dentro del polipéptido con actividad 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.

15. La partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde el polipéptido codificado con actividad FIX es un polipéptido FIX variante R338L.

16. La partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde la partícula de vector lentivírico comprende de 20 moléculas/pm² a 1000 moléculas/pm² del polipéptido CD47.

17. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 16, en donde la partícula de vector lentiviral comprende al menos 225 moléculas/pm² del polipéptido CD47.

18. La partícula de vector lentiviral de la reivindicación 16 o 17, en donde la partícula de vector lentiviral comprende al menos 400 moléculas/pm² del polipéptido CD47.

19. Una célula que comprende una secuencia de nucleótidos que comprende (i) un promotor específico de tejido, y (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido con actividad de factor IX (FIX), en donde la secuencia de ácido nucleico comprende la SEQ ID NO: 1, 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;

en donde la célula se modifica para sobreexpresar el polipéptido

CD47.

20. La célula de la reivindicación 19, en donde la célula no expresa MHC-I.

21. La célula de la reivindicación 19 o 20, 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 proteína CD47 en la superficie de la célula en comparación con una célula de control que no está modificada para sobreexpresar CD47; y/o

el CD47 es un CD47 humano.

22. Un método para producir una partícula de vector lentiviral de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, que comprende cultivar, en condiciones adecuadas, la célula de una cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21.