

## **REIVINDICACIONES**

1. Una molécula de ácido nucleico que comprende una primera repetición terminal invertida (ITR) y una segunda ITR que flanquean un casete genético que comprende una secuencia de polinucleótidos heteróloga, en donde la primera ITR y/o la segunda ITR comprende una secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 180, 181, 183, 184, 185, 186, 187 o 188.
2. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 1, en donde opcionalmente:  
la primera ITR comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 180 y la segunda ITR comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 181;  
la primera ITR comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 183 y la segunda ITR comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 184;  
la primera ITR comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 185 y la segunda ITR comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 186;  
la primera ITR comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 187 y la segunda ITR comprende la secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 188; o  
la primera ITR y la segunda ITR son complementos inversos entre sí.
3. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 1 o 2, que comprende además un promotor, en donde:  
el promotor está ubicado 5' con respecto a la secuencia de polinucleótidos heteróloga; y  
el promotor es un promotor específico de tejido;  
el promotor impulsa la expresión de la secuencia de polinucleótidos heteróloga en un órgano seleccionado entre músculo, sistema nervioso central (SNC), sistema ocular, hígado, corazón, riñón, páncreas, pulmones, piel, vejiga, tracto urinario, o cualquier combinación de los mismos;  
el promotor impulsa la expresión de la secuencia de polinucleótidos heteróloga en hepatocitos, células endoteliales, células de músculo cardíaco, células de músculo esquelético, células sinusoidales, neuronas aferentes, neuronas eferentes, interneuronas, células gliales, astrocitos, oligodendrocitos, microglía, células ependimarias, células epiteliales de

pulmón, células de Schwann, células satélite, células fotorreceptoras, células del ganglio retiniano, o cualquier combinación de las mismas; y/o el promotor se selecciona del grupo que consiste en un promotor de tiretina de ratón (mTTR), un promotor de factor VIII humano endógeno (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),  $\alpha$ 1-antitripsina (AAT), creatina quinasa muscular (MCK), cadena pesada alfa de miosina ( $\alpha$ MHC), mioglobina (MB), desmina (DES), SPc5-12, 2R5Sc5-12, dMCK, tMCK, y un promotor de fosfoglicerato quinasa (PGK).

4. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde:  
la secuencia de polinucleótidos heteróloga comprende además una secuencia intrónica, en donde opcionalmente:
  - la secuencia intrónica está ubicada 5' con respecto a la secuencia de polinucleótidos heteróloga;
  - la secuencia intrónica está ubicada 3' con respecto al promotor;
  - la secuencia intrónica comprende una secuencia intrónica sintética;
  - y/o
  - la secuencia intrónica comprende SEQ ID NO: 115 o 192;la secuencia de polinucleótidos heteróloga codifica un factor de coagulación, un factor de crecimiento, una hormona, una citocina, o un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo.
5. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la molécula de ácido nucleico comprende de 5' a 3': la primera ITR, el casete genético, y la segunda ITR; en donde el casete genético comprende una secuencia promotora específica de tejido, una secuencia intrónica, la secuencia de polinucleótidos heteróloga, un elemento regulador post-transcripcional, y una secuencia de cola de poli(A) 3' UTR, en donde opcionalmente el casete genético comprende de 5' a 3': una secuencia promotora específica de tejido, una secuencia intrónica, la secuencia de polinucleótidos heteróloga, un elemento regulador post-transcripcional, y una secuencia de cola de poli(A) 3' UTR, en donde:
  - (a) la secuencia promotora específica de tejido comprende un promotor TTT;
  - (b) el intrón es un intrón sintético;

- (c) el elemento regulador post-transcripcional comprende WPRE; y
  - (d) la secuencia de cola de poli(A) 3'UTR comprende bGHpA.
6. La molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la secuencia de polinucleótidos heteróloga codifica un factor de coagulación seleccionado del grupo que consiste en factor I (FI), factor II (FII), factor III (FIII), factor IV (FVI), factor V (FV), factor VI (FVI), factor VII (FVII), factor VIII (FVIII), factor IX (FIX), factor X (FX), factor XI (FXI), factor XII (FXII), factor XIII (FVIII), factor de Von Willebrand (VWF), precalicreína, cininógeno de alto peso molecular, fibronectina, antitrombina III, cofactor de heparina II, proteína C, proteína S, proteína Z, inhibidor de proteasa relacionada con proteína Z (ZPI), plasminógeno, alfa 2-antiplasmina, activador de plasminógeno tisular (tPA), uroquinasa, inhibidor del activador de plasminógeno-1 (PAI-1), e inhibidor del activador de plasminógeno-2 (PAI2).
  7. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que las secuencias de polinucleótidos heterólogos codifican un FVIII que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 106 o SEQ ID NO: 109.
  8. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
  9. Una célula hospedadora que comprende la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
  10. Una composición farmacéutica que comprende el ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o el vector de la reivindicación 8, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
  11. Una composición farmacéutica que comprende la célula hospedera de la reivindicación 9 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
  12. Un sistema de baculovirus para la producción de una molécula de ácido nucleico para la expresión de una secuencia de polinucleótidos heterólogos, el sistema que comprende una molécula de ácido nucleico que comprende una primera repetición terminal invertida (ITR) y una segunda ITR que flanquea un casete genético que comprende una secuencia de polinucleótidos heterólogos, en el que el primer RTI y el segundo RTI

comprenden una secuencia de nucleótidos establecida en los números de identificación de la secuencia 180, 181, 183, 184, 185, 186, 187 o 188.

13. Un sistema de suministro de nanopartículas que comprende la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
14. Un método de producción de un polipéptido, que comprende cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 9 en condiciones adecuadas y recuperar el polipéptido, en donde el polipéptido es un polipéptido con actividad de coagulación y el método comprende recuperar el polipéptido con actividad de coagulación.
15. Uso de la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, el vector de la reivindicación 8, o la composición farmacéutica de la reivindicación 10, para expresar una secuencia de polinucleótidos heterólogos en un sujeto que lo necesite.
16. Uso de la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, el vector de la reivindicación 8, o la composición farmacéutica de la reivindicación 10, para tratar una enfermedad o desorden en un sujeto que lo necesite.
17. Uso de la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 7, el vector de la reivindicación 8, el polipéptido de la reivindicación 14 o la composición farmacéutica de la reivindicación 10, para el tratamiento de la hemofilia A en un sujeto que lo necesite.