ADMINISTRACIÓN PERIOCULAR DE VECTORES VIRALES ADENOASOCIADOS (AAV) PARA TRATAR PATOLOGÍAS OFTÁLMICAS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente descripción se refiere al campo médico y a la administración de genes, incluida la terapia génica de AAV para tratar patologías oculares.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Las patologías oftálmicas afectan de forma significativa la calidad de vida de millones de personas cada año y pueden provocar molestias graves, problemas de visión o ceguera.

La administración de productos terapéuticos a las regiones oftálmicas y la cinética posterior de estas terapias a la(s) ubicación(es) apropiada(s) dentro o cerca del ojo son de gran importancia para el tratamiento de una variedad de patologías oftálmicas.

La administración de fármacos con efectos adversos mínimos y máxima eficacia en el tejido diana es uno de los mayores desafíos a los que se enfrenta durante el desarrollo de fármacos. Debido a las propiedades estructurales y metabólicas de las regiones oftálmicas, los diferentes métodos de administración (es decir, inyecciones tópicas, sistémicas, oculares y perioculares) pueden dar como resultado concentraciones muy diferentes del agente

terapéutico administrado en el sitio de acción, lo que a menudo hace que sea un desafío estar dentro de la ventana terapéutica. Por lo tanto, la modificación y administración de productos terapéuticos de manera efectiva a los tejidos oftálmicos es un paso crucial en el desarrollo de terapias exitosas.

La instilación tópica, la vía de administración menos invasiva, también es una de las menos eficaces, por ejemplo, la biodisponibilidad de los productos terapéuticos tópicos es baja en general y la penetración en la córnea y el epitelio conjuntival es ineficiente.

La administración sistémica se puede lograr a través de la administración oral en forma de una tableta o líquido consumible o a través de vías parenterales, tal como la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intradérmica en una forma inyectable. Debido a la baja biodisponibilidad ocular y la alta exposición sistémica, estos métodos son atípicos para la administración de productos terapéuticos en oftalmología. El metabolismo sistémico es otro obstáculo para la administración sistémica y reduce en gran medida la concentración de los productos terapéuticos que pueden llegar a la región oftálmica.

La administración intraocular incluye la inyección o implantación de una solución o dispositivo estéril dentro del ojo a través de las vías de administración intravítrea,

subretiniana o supracoroidea. Las inyecciones intravítreas y subretinianas son vías de administración comunes para productos terapéuticos basadas en vectores que tratan enfermedades dentro del ojo.

La administración periocular es otro método para introducir productos terapéuticos en una región oftálmica. El espacio subconjuntival es el más comúnmente usado en la práctica clínica, pero la biodisponibilidad terapéutica es habitualmente pobre. Tras la inyección subconjuntival, se ha determinado que la biodisponibilidad terapéutica es aproximadamente similar a la administración tópica y mucho menor que la administración intravítrea (Subrizi, A. *et al*., Design Principles of Ocular Drug Delivery Systems: Importance of Drug Payload, Release Rate, and Material Properties. Drug Discov. Today 2019, 24, 1446–1457).

Existe la necesidad de desarrollar estrategias de administración a la región oftálmica que permitan la administración eficiente del agente terapéutico basado en vectores mientras se minimizan las complicaciones iatrogénicas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV, en

donde la administración es una inyección periocular. En algunos aspectos, la inyección periocular se selecciona de una inyección periorbital o una inyección post-septal. En algunos aspectos, la inyección periorbital se selecciona del grupo que consiste en una inyección subtenoniana, inyección retrobulbar, inyección subconjuntival o inyección peribulbar. En algunos aspectos, la inyección periorbital es una inyección retrobulbar. En algunos aspectos, la inyección periorbital es una inyección peribulbar.

En algunos aspectos, el vector de AAV entra en contacto con tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es) seleccionado(s) del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculo elevador extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal, película lagrimal o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el vector de AAV entra en contacto con tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es) seleccionados del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales

extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para administrar una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV a un tejido orbital o un compartimento extraocular, que comprende inyectar el vector de AAV periocularmente, en donde el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es) se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculo elevador extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lacrimal, saco lacrimal, película lagrimal o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o el o los compartimentos extraoculares, se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares,

músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el volumen de las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) administradas por vía periocular es de aproximadamente 0.1 mL a aproximadamente 10 mL, aproximadamente 1 mL a aproximadamente 10 mL, aproximadamente 0.5 mL a aproximadamente 10 mL, aproximadamente 5 mL a aproximadamente 10 mL, aproximadamente 0.1 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 1 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 0.5 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 5 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 0.1 mL a aproximadamente 1 mL, aproximadamente 0.25 mL a aproximadamente 1 mL, aproximadamente 2.5 mL a aproximadamente 1 mL o aproximadamente 0.5 mL a aproximadamente 1 mL.

En algunos aspectos, la administración comprende un volumen de 0.1 mL a 1 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende un volumen de 0.1 mL a 0.5 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende un volumen de 0.3 mL a 0.5 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende un volumen de aproximadamente 0.4 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la eficiencia de transducción del vector de AAV es al menos 5% (por ejemplo, 5% a 95%, 10% a 95%, 15% a 95%, 20% a 95%, 25% a 95%, 30% a 95%, 40% a 95% o 50% a 95%) de las células de tejido ocular o periocular.

En algunos aspectos, el vector de AAV transduce células seleccionadas del grupo que consiste en adipocitos, fibroblastos orbitales y músculos extraoculares.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una cápside de un serotipo seleccionado del grupo que consiste en AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVRh8, AAVrh9, AAV9, AAVrh10, AAV10, AAV11, AAV12 y una versión modificada de los mismos.

En algunos aspectos, el serotipo de la cápside es AAV8 o AAV9. En algunos aspectos, el serotipo de la cápside es AAV9.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una cápside, un genoma de vector y un casete de expresión.

En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una repetición terminal invertida (ITR).

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico.

En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 53.

En algunos aspectos, el agente terapéutico comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un Fab, un Fab', un F(ab')2, un fragmento Fv, un anticuerpo lineal o un anticuerpo de cadena individual (por ejemplo, un nanocuerpo).

En algunos aspectos, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-6R, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-IL-11R, anti-TNF-α, anti-CD28, anti- FcRn o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α, anti-CD28 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en tocilizumab, teprotumumab, bevacizumab, ranibizumab, faricimab, infliximab, daclizumab, secukinumab o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es

teprotumumab, VRDN-01100 (SEQ ID NO: 78), VRDN-02700 (SEQ ID NO: 81), ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751,871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51 o L52H52, o fragmentos, variantes, o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo es teprotumumab.

En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo anti-IL-6. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6 o fragmento de unión a antígeno del mismo es Tocilizumab, Siltuximab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab o Levilimab.

En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo anti-IL-6-R. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6-R o fragmento de unión a antígeno del mismo es Sarilumab o Satralizumab.

En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo anti-IL-11. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11 o fragmento de unión a antígeno del mismo es 9MW3811.

En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo

anti-receptor de IL-11 (anti-IL-11R). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11R o fragmento de antígeno del mismo es BI 765423 o LASN01.

En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo anti-FcRn. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno del mismo es Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab o IMVT-1402.

En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo anti-TSHR. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-TSHR o fragmento de unión a antígeno del mismo es K1-70.

En algunos aspectos, después de la administración del vector de AAV al sujeto, la expresión del agente terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo) en el músculo ocular del sujeto es de al menos aproximadamente 18 µg/ml y/o la concentración sérica del agente terapéutico es inferior a aproximadamente 6 µg/mL. En algunos aspectos, después de la administración del vector de AAV al sujeto, la expresión del agente terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo) en el músculo ocular del sujeto es de al menos aproximadamente 18 µg/ml y/o la concentración sérica del agente terapéutico es inferior a aproximadamente 6 µg/mL. En algunos aspectos, la concentración en el tejido ocular es de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 180 µg/mL, de

aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 100 µg/mL, de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 60 µg/mL, o de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 30 µg/mL. En algunos aspectos, el agente terapéutico es menor que aproximadamente 6 µg/mL (por ejemplo, aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5.9 µg/mL) en suero después de la administración del vector de AAV.

En algunos aspectos, la patología oftálmica es una enfermedad ocular o periocular.

En algunos aspectos, la patología oftálmica se selecciona del grupo que consiste en Degeneración Macular Relacionada con la Edad, Enfermedad de Behçet, Distrofia Cristalina de Bietti, Blefaritis, Blefaroespasmo, Coloboma, Condiciones Corneales, Retinopatía Diabética, Ojo Seco, Glaucoma, Hipertensión Intracraneal Idiopática, Edema Macular, Síndrome de Histoplasmosis Ocular, Ojo Rosa o Rosado (Conjuntivitis), Retinitis Pigmentosa, Retinobastoma, Retinopatía del Prematuro, Enfermedad de Stargardt, SDíndrome de Usher, Enfermedad Ocular Tiroidea (TED, por sus siglas en inglés), Uveítis, tumores orbitales o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, la patología oftálmica es la Enfermedad Ocular Tiroidea (TED).

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis individual.

En algunos aspectos, la administración comprende múltiples dosis.

En algunos aspectos, cada dosis de la dosis múltiple se administra al sujeto en un sitio de inyección individual.

En algunos aspectos, cada dosis de la dosis múltiple se administra al sujeto a través de múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es bilateral, es decir, se administra a ambos ojos (por ejemplo, una inyección peribulbar a cada ojo).

En algunos aspectos, la administración comprende inyecciones peribulbares bilaterales.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una enfermedad ocular tiroidea en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, la administración es una inyección peribulbar. En algunos aspectos, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IGF-1R, un anticuerpo anti-IL-6, un anticuerpo anti-IL-6R, un anticuerpo anti-IL-11, un anticuerpo anti-IL-11R, un anticuerpo anti-FcRn, un anticuerpo anti-TSHR o fragmentos de unión al

antígeno del mismo.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la administración es una inyección peribulbar.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-6 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la administración es una inyección peribulbar.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-6R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la administración es una inyección peribulbar.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-11 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la administración es una inyección peribulbar.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-11R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la administración es una inyección peribulbar.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la administración es una inyección peribulbar.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un

método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-TSHR o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la administración es una inyección peribulbar.

En algunos aspectos, la enfermedad ocular tiroidea se selecciona de la Orbitopatía de Graves activa y la Orbitopatía de Graves crónica.

En algunos aspectos, la administración es una dosis individual.

En algunos aspectos, la dosis individual se administra en un sitio de inyección individual.

En algunos aspectos, la dosis individual se administra en múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es de dosis múltiples.

En algunos aspectos, la dosis de las múltiples dosis se administra en un sitio de inyección individual.

En algunos aspectos, cada dosis de las múltiples dosis se administra en diferentes sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es bilateral, es decir, se administra a ambos ojos (por ejemplo, una inyección peribulbar a cada ojo).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo es teprotumumab.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL).

En algunos aspectos, la VH comprende una región determinante de complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés) 1 de VH, una CDR2 de VH y una CDR3 de VH. En algunos aspectos, la CDR1 de VH se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 9 o 12. En algunos aspectos, la CDR2 de VH se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 10, 13 o 15. En algunos aspectos, la CDR3 de VH se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 11, 14 o 16.

En algunos aspectos, la VL comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1 de VL, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL. En algunos aspectos, la CDR1 de VL se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%,

86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 17. En algunos aspectos, la CDR2 de VL se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 18, 20 o 22. En algunos aspectos, la CDR3 de VL se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 19, 21 o 23.

En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 24-26.

En algunos aspectos, la región variable de cadena ligera se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 29-31.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R comprende una cadena pesada y una cadena ligera.

En algunos aspectos, la cadena pesada se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%

de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 40-42.

En algunos aspectos, la cadena ligera se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 46-48.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo unido operativamente a un promotor, en donde el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IGF-1R, un anticuerpo anti-IL-6, un anticuerpo anti-IL-6R, un anticuerpo anti-IL-11, un anticuerpo anti-IL-11R, un anticuerpo anti-FcRn, un anticuerpo anti-TSHR o fragmentos de unión al antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo unido operativamente a un promotor.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-6 o un fragmento de unión a antígeno del mismo unido operativamente

a un promotor.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-6R o un fragmento de unión a antígeno del mismo unido operativamente a un promotor.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-11 o un fragmento de unión a antígeno del mismo unido operativamente a un promotor.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-11R o un fragmento de unión a antígeno del mismo unido operativamente a un promotor.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo unido operativamente a un promotor.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-TSHR o un fragmento de unión a antígeno del mismo unido operativamente

a un promotor.

En algunos aspectos, el promotor se selecciona del grupo que consiste en un potenciador temprano de CMV/promotor de β actina de pollo (CAG), CAG, CBA, smCBA, CMV, subunidad la del factor de elongación humano (EF1α), EF1α con un potenciador de CMV, un promotor de CMV con un potenciador de CMV (CMVe/p), un promotor de CMV con un intrón de SV40 o un promotor específico de tejido.

En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CAG.

En algunos aspectos, el promotor es un promotor de smCBA.

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende además un intrón.

En algunos aspectos, el intrón se selecciona del grupo que consiste en un intrón de SV40, un intrón de MVM, un intrón de CAG o un intrón de betaglobina humana.

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica para un péptido señal unido operativamente al ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal de IL-2 o un péptido señal de IL-10.

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende

además una secuencia poli(A).

En algunos aspectos, el poli(A) es un poli(A) sintético o un poli(A) de hormona de crecimiento bovino (BGH, por sus siglas en inglés).

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una cápside de un serotipo seleccionado del grupo que consiste en AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVRh8, AAVrh9, AAV9, AAVrh10, AAV10, AAV11, AAV12 y una versión modificada de los mismos.

En algunos aspectos, el serotipo de la cápside es AAV8 o AAV9. En algunos aspectos, el serotipo de la cápside es AAV9.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una cápside, un genoma de vector y un casete de expresión.

En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una repetición terminal invertida (ITR, por sus siglas en inglés).

En algunos aspectos, el vector de AAV es un AAV recombinante (rAAV, por sus siglas en inglés) que comprende una cápside de AAV9 que encapsula un genoma de vector que comprende una secuencia codificante de ácido nucleico para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, opcionalmente teprotumumab, flanqueado por un par de repeticiones terminales invertidas (ITR).

En algunos aspectos, al sujeto se le administra de

aproximadamente 6E11 a aproximadamente 2E13 genomas de vector (vg) por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 1E12 a aproximadamente 2E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 3E12 a aproximadamente 1.8E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 5E12 a aproximadamente 1E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 6E12 a aproximadamente 9E12 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra aproximadamente 6E12 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra aproximadamente 9E12 vg por ojo.

En algunos aspectos, la administración (por ejemplo, una inyección peribulbar) es una dosis individual para el ojo (por ejemplo, una administración unilateral). En algunos aspectos, la dosis individual se administra en un sitio de inyección individual. En algunos aspectos, la dosis individual se administra en múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración (por ejemplo, una inyección peribulbar) es múltiples dosis en el ojo (por ejemplo, una administración unilateral). En algunos aspectos, la dosis de las múltiples dosis se administra en un sitio de inyección individual. En algunos aspectos, cada dosis de las múltiples dosis se administra en diferentes sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es bilateral, es decir, se administra a ambos ojos (por ejemplo, una inyección peribulbar a cada ojo).

En algunos aspectos, el genoma del vector comprende la secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 142. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende la secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 142.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para aumentar la expresión de teprotumumab en el ojo de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo de teprotumumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la administración es una inyección peribulbar, en donde la expresión de teprotumumab es al menos 18 µg/mL en el tejido ocular, opcionalmente en donde el tejido ocular es músculo ocular. En algunos aspectos, la concentración en el tejido ocular es de aproximadamente 18 µg/mL a 180 µg/mL, de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 100 µg/mL, de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 60 µg/mL, o de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 30 µg/mL.

En algunos aspectos, la concentración de teprotumumab

es menor que aproximadamente 6 µg/mL (por ejemplo, aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5.9 µg/mL) en suero después de la administración del vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el anticuerpo de teprotumumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra un esquema de un ejemplo de inyección retrobulbar. Se inserta una aguja en la conjuntiva temporal inferior para administrar la carga útil de AAV en el espacio retrobulbar dentro del cono muscular extraocular lateral.

La Figura 2 muestra un esquema de un ejemplo de inyección post-septal. Se inserta una aguja a través del tabique orbital inferior para administrar la carga útil de AAV a la grasa orbital fuera del cono muscular.

La Figura 3 muestra un esquema de inyección peribulbar infratemporal de ejemplo. La aguja se inserta en el ángulo del tercio lateral y los dos tercios mediales del borde orbital inferior paralelo al piso de la órbita y tangencial al globo en el plano sagital y no en ángulo hacia el ápice.

La Figura 4 muestra la tinción inmunohistoquímica de las secciones transversales del tejido adiposo extraocular recolectadas de detrás del globo ocular izquierdo de 2 minicerdos de Göttingen del grupo 4 después de la inyección

retrobulbar con 1E12 vg/ojo AAV9.CAG.mCherry y la tinción para mCherry.

La Figura 5 muestra la tinción inmunohistoquímica (IHC, por sus siglas en inglés) del músculo extraocular recolectado del ojo izquierdo de 2 minicerdos de Göttingen del grupo 4 después de la inyección retrobulbar con 1E12 vg/ojo AAV9.CAG.mCherry y la tinción para mCherry.

La Figura 6 muestra la tinción IHC de la sección transversal del ojo izquierdo de un minicerdo de Göttingen con diferentes regiones anatómicas incluidas, tal como la córnea, cristalino, cuerpo ciliar, retina, disco óptico, una pequeña parte del nervio óptico unido al globo ocular y un tejido adiposo extraocular unido detrás del globo ocular con algún músculo de margen adherente (panel superior) más el nervio óptico restante incrustado por separado (panel inferior), con tejido conectivo fibroso perióptico sustancial y adipocitos que rodean el nervio óptico observados después de la inyección retrobulbar con 1E12 vg/ojo AAV9.CAG.mCherry y tinción IHC para mCherry.

Las Figuras 7A-7B muestran la puntuación de IHC de los tejidos teñidos con AAV9.mCherry de 3 minicerdos de Göttingen después de la inyección periocular. Se usó un sistema de puntuación semicuantitativo que evalúa la presencia (Figura 7A) o intensidad (Figura 7B) de la matriz. La puntuación de presencia general refleja el número total de

células positivas para mCherry, independientemente de la intensidad, en toda la sección que varía de 0 a 5 (puntuación: 0=Ausente; 1=Mínimo con 1-10% de tejido diana positivo; 2=Leve con 11-25% positivo; 3=Moderado con 26-50% positivo; 4=Marcado con 51-75% positivo; y 5=Grave con >75% positivo). La puntuación de intensidad evalúa el tono de color general de la tinción positiva y se dividió en 4 categorías de puntuación que van de 0 a 3 (0=Ausente; 1 = Débil; 2= Intensidad intermedia entre débil y fuerte y/o patrón mixto sin categoría de tinción superior al 50%; y 3=Fuerte). Se analizaron compartimentos oculares, regiones cerebrales, CNS y tejidos periféricos adicionales y se calificaron como 0.

La Figura 8 muestra copias del genoma del vector en todos los tejidos recolectados después de la inyección retrobulbar en 2 minicerdos de Göttingen del grupo 4 después de la inyección retrobulbar con 1E12 vg/ojo AAV9.CAG.mCherry, según lo determinado mediante un ensayo de qPCR dirigido a la región poliA de bGH ubicada en el extremo 3’ del transgén encontrado dentro de los vectores del artículo de prueba.

La Figura 9 muestra los genomas del vector medidos mediante qPCR en tejidos oculares y sistémicos en minicerdos de Göttingen a los que se administró mCherry vectorizado periocular (cps = copias; ds = de doble hebra; EOM = intramuscular extraocular; RB = retrobulbar periocular; VG =

genoma del vector; las muestras por debajo del límite de cuantificación (BLOQ) se representaron como ceros).

La Figura 10 muestra la tinción de mCherry en músculos adiposos y extraoculares después de la inyección periocular de AAV9.mCherry en minicerdos de Göttingen. Cada músculo extraocular del ojo izquierdo (OS) se dividió en 3 piezas, se fijó en formalina, se cortó a 5 µm, se tiñó con anticuerpo anti-mCherry y se desarrolló usando DAB (3,3-diaminobencidina) como cromógeno. Las imágenes representativas de diferentes animales se muestran con un aumento de 1X o 28X.

Las Figuras 11A-11B muestran la expresión de la proteína Teprotumumab en minicerdos de Göttingen administrados periocularmente AAV9.CAG.teprotumumab. Suero de cada animal al que se le administró AAV9.CAG.teprotumumab retrobulbar (Grupo 2) en D8, D15 y D22 (izquierda) (Figura 11A) y los tejidos de cada ojo en el Día 22 (derecha, 2 por animal) se representan por separado (Figura 11B). Las concentraciones séricas se informan como ng por mL de suero y las concentraciones de tejido sólido se informan como cantidades de teprotumumab (µg) por volumen (mL) de tejido aislado. Los valores del límite inferior de cuantificación (LLOQ) en el pocillo son 8 ng/ml para suero, 144 ng/mg para músculo y 72 ng/mg para tejido adiposo. No se informan los valores para las muestras de BLOQ.

La Figura 12 muestra genomas de vectores en tejidos extraoculares de minicerdos de Göttingen a los que se administró AAV9.CAG.teprotumumab periocular. Los animales recibieron una inyección retrobulbar de AAV9.CAG.teprotumumab (Grupo 2) (cps = copias; ds = de doble hebra; OS = ojo izquierdo; OD = ojo derecho; VG = genomas de vector).

La Figura 13 muestra genomas de vector en tejidos seleccionados de ratones de tipo silvestre que recibieron mCherry vectorizado periocular o teprotumumab vectorizado intramuscular (las muestras graficadas a cero fueron BLOQ. cps = copias; IM = intramuscular; PO = periocular; VG = genomas de vector).

Las Figuras 14A-14C muestran tinción IHC de mCherry en secciones transversales del globo ocular, hígado y corazón, respectivamente, después de la inyección periocular en ratones de tipo silvestre. Imágenes representativas de todo el globo ocular, el hígado y el corazón de cada animal. Cada tejido se fijó en formalina, se cortó a 5 µm y se tiñó con anticuerpo anti-mCherry usando DAB (3,3'-diaminobencidina) como cromógeno. Se observa la ampliación de imágenes representativas de diferentes animales para cada tejido.

Las Figuras 15A-15B muestran concentraciones de teprotumumab en suero y cuádriceps (músculo), respectivamente, de ratones a los que se administró

teprotumumab vectorizado intramuscular, respectivamente. Las muestras representadas en cero fueron BLOQ. smCBA = AAV9.smCBA.teprotumumab intramuscular; CAG = AAV9.CAG.teprotumumab intramuscular; IV = intravenoso; ns = no significativo.

Las Figuras 16A-16B muestran concentraciones séricas de teprotumumab después de una dosis individual de Tepezza IV en primates no humanos (NHP, por sus siglas en inglés). Concentraciones de teprotumumab en suero de NHP durante 9 días después de Tepezza IV a 20 mg/kg (Figura 16A) y 50 mg/kg (Figura 16B). El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de suero. El LLOQ en el pozo fue de 50 ng/mL. Las únicas muestras por debajo del nivel de cuantificación estaban en el tiempo cero y se representan en el gráfico como cero.

Las Figuras 17A-17B muestran concentraciones de teprotumumab en músculo y tejido adiposo, respectivamente, 9 días después de la inyección de Tepezza IV en NHP. Se muestran las concentraciones de teprotumumab para los músculos oculares (Figura 17A) y secciones adiposas (Figura 17B) de NHP tratados con 20 mg/kg o 50 mg/kg de Tepezza IV. El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de tejido aislado. El LLOQ en el pocillo fue de 25 ng/mL

(músculo) y 4 ng/mL (tejido adiposo). IO = oblicuo inferior; IR = recto inferior; LR = recto lateral; MR = recto medial; SO = oblicuo superior; SR = recto superior; PB = peribulbar; RB =retrobulbar.

Las Figuras 18A-18B muestran concentraciones de teprotumumab en músculo ocular o adiposo, respectivamente, 9 días después de Tepezza IV en NHP. Las concentraciones de teprotumumab se combinaron en todos los músculos oculares (Figura 18A) y secciones adiposas (Figura 18B) 9 Días después del tratamiento con 20 mg/kg o 50 mg/kg de Tepezza IV. El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de tejido aislado. El LLOQ en el pocillo fue de 25 ng/mL (músculo) y 4 ng/mL (tejido adiposo). No hubo muestras por debajo del nivel de cuantificación y el valor medio se indica en la parte superior de cada barra.

Las Figuras 19A-19B muestran las concentraciones séricas de teprotumumab en NHP después de una inyección peribulbar individual de AAV9.smCBA.teprotumumab. AAV9.smCBA.teprotumumab se dosificó a 1E12 vg/ojo (Figura 19A) o 4.65E12 vg/ojo (Figura 19B). El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de tejido aislado. El LLOQ en el pozo fue de 50 ng/mL y las muestras por debajo del nivel de cuantificación se imputaron como LLOQ/2 para la

representación en el gráfico.

Las Figuras 20A-20B muestran las concentraciones de teprotumumab por cada sección muscular y adiposa en los NHP 35 días después de la administración peribulbar de dosis altas de AAV9.smCBA.teprotumumab. Se determinaron las concentraciones de teprotumumab para cada músculo ocular (Figura 20A) y sección adiposa (Figura 20B) de animales en el grupo de dosis de 4.65E12 vg/ojo. El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de tejido aislado. El LLOQ en el pocillo fue de 25 ng/mL (músculo) y 4 ng/mL (tejido adiposo). Las muestras por debajo del nivel de cuantificación no se incluyeron en el gráfico. IO = oblicuo inferior; IR = recto inferior; LR = recto lateral; MR = recto medial; SO = oblicuo superior; SR = recto superior; PB = peribulbar; RB =retrobulbar.

Las Figuras 21A-21B muestran la concentración de teprotumumab en el músculo ocular o adiposo de los NHP 35 días después de la administración peribulbar de AAV9.smCBA.teprotumumab. Las concentraciones de teprotumumab se combinaron en todos los músculos oculares (Figura 21A) y muestras adiposas (Figura 21B). El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de tejido aislado. El LLOQ en el pocillo fue de 25 ng/mL (músculo) y 4 ng/mL (tejido adiposo).

Las muestras por debajo del nivel de cuantificación no se incluyeron en el gráfico ni para la generación del valor medio, que se indica en la parte superior de cada barra.

Las Figuras 22A-22B muestran los niveles de proteína Teprotumumab en tumores y suero, respectivamente, después de la inyección intratumoral de AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab, o la inyección intraperitoneal de anticuerpo teprotumumab en tumores Colo205 de ratones desnudos con xenoinjerto. Los niveles de proteína de teprotumumab (recombinante o vectorizado con AAV) para el Día 15 (n = 3), 22 (N = 3) y 31 (N = 8) se determinaron mediante un ELISA IgG MSD. ELISA = ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas; MSD = Meso Scale Discovery; SD = desviación estándar.

La Figura 23 muestra los niveles del genoma del vector determinados por qPCR en tumores Colo205 de ratones desnudos con xenoinjerto después de la administración de AAV9.smCBA.teprotumumab, AAV9.CAG.teprotumumab, AAV9.smCBA.mCherry o AAV9.CAG.mCherry. Se determinaron copias de genomas de vector por µg de ácido nucleico de entrada mediante cebadores que reconocen la región poliA de bGH en un ensayo de qPCR. Se detectaron genomas de vectores en 3 animales tratados con Tepezza (control), probablemente debido a la contaminación de la muestra durante la recolección de la muestra. Las muestras por debajo del nivel de cuantificación

se representan como cero para la representación en el gráfico.

La Figura 24 muestra los niveles de expresión de la proteína IGF1R en tumores después del tratamiento con AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab en comparación con Tepezza. Los niveles de proteína de IGF1R se determinaron mediante un ELISA de IgG MSD en tumores de animales de necropsia provisional y terminal. ELISA = ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas; MSD = Meso Scale Discovery; SD = desviación estándar. Los niveles de IGF1R en tumores de animales tratados con AAV9.smCBA.teprotumumab, AAV9.CAG.teprotumumab o Tepezza no fueron significativamente diferentes entre sí en ningún momento, pero fueron significativamente más bajos en cada momento que en los animales tratados con vehículo o los animales de control no tratados.

La Figura 25 muestra la correlación de la cuantificación de anticuerpos IgG de Tepezza, AAV9.smCBA.teprotumumab y AAV9.CAG.teprotumumab mediante el ensayo de IgG humana Gyrolab y el ensayo de unión a MSD IGF1R. IgG = inmunoglobulina G; MSD = Meso Scale Discovery.

La Figura 26A-26B muestran los niveles totales de IGF1R y fosfotirosina IGF1R, respectivamente, en células HT-1080 después del tratamiento con Tepezza o AAV9.smCBA.teprotumumab. Las células HT1080 se trataron con

Tepezza, AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab y se estimularon con 500 ng/mL de IGF1 humano. El IGF1R y el IGF1R fosforilado se midieron mediante ELISA MSD. Comparación de los valores de IC50 para la diferencia significativa para el IGF1R Total: P = 0.9611 (No significativo) e IGF1R fosforilado: P = 0.0950 (No significativo).

La Figura 27 muestra los niveles basales de proteína IGF1R en la enfermedad de Graves y fibrocitos primarios de donantes sanos después del tratamiento con teprotumumab derivado del vector. Impacto de los sobrenadantes de transducción de AAV9.CAG.teprotumumab en la expresión total de la proteína IGF1R en fibrocitos aislados de sangre periférica sana (Donante 003N) o de enfermedad de Graves (Donante 002G). Los fibrocitos se trataron con sobrenadantes simulados o 500 ng/mL de teprotumumab derivado de vector (de la construcción AAV9.CAG.teprotumumab) durante 24-48 horas antes de la recolección y preparación de lisados celulares. La proteína IGF1R total se determinó usando el kit de señalización de insulina (Meso Scale Discovery). Se calculó el nivel de proteína basal de IGF1R relativo en comparación con las muestras tratadas de forma simulada. Las muestras se procesaron por duplicado con dos réplicas biológicas para el Donante 003N y una réplica biológica para el Donante 002G.

Las Figuras 28A-28C muestran una reducción porcentual (%) para la expresión de IGF-1R en fibroblastos orbitales

después del tratamiento con diversas concentraciones de teprotumumab derivado de células transducidas con AAV9.smCBA.teprotumumab (vTepro) durante 24 horas. La Figura 28A muestra la respuesta de fibroblastos orbitales derivados de un paciente con TED que había sido tratado con Teppeza durante más de 90 días (Dn 002). La Figura 28B muestra la respuesta de fibroblastos orbitales derivados de un paciente con TED que no había recibido Teppeza (Dn 004). La Figura 28C muestra la respuesta de fibroblastos orbitales derivados de un donante de control que no padece TED. El porcentaje de reducción para la expresión de IGF-1R se calculó usando la intensidad total de células positivas promedio para los pocillos de control como un valor de línea base restado por cada valor de intensidad total de células positivas en cada nivel de concentración. La reducción de IGF-1R se observó principalmente en las concentraciones más altas de vTepro, especialmente para los donantes 002 y 004.

Las Figuras 29A-29C muestran el porcentaje (%) de reducción para la expresión de IGF-1R para donantes de fibroblastos orbitales Dn 002 (Figura 29A), Dn 004 (Figura 29B), y Dn 006 (Figura 29C) que se trató con diversas concentraciones de teprotumumab derivado de células transducidas con AAV9.smCBA.teprotumumab (vTepro) e IGF-1 a 100 ng/mL durante 24 horas. El porcentaje de reducción para la expresión de IGF-1R se calculó usando la intensidad total

celular positiva promedio para los pocillos tratados solo con IGF-1 como un valor de linea base restado por cada valor de intensidad total celular positiva en cada nivel de concentración.

Las Figuras 30A-30B muestra el cambio relativo desde la línea base en los niveles umbral de respuesta cerebral auditiva (ABR) en tres frecuencias. Las ABR se midieron por cada animal al inicio del estudio y a las 4 semanas (Figura 30A) y 12 semanas (Figura 30B) después de la dosificación de AAV9.smCBA.teprotumumab peribulbar. El umbral de respuesta cerebral, informado en decibelios, se registró en frecuencias de 5, 10 y 20 kHz. Al umbral de decibelios para cada lectura de 4 semanas y 12 semanas se le restaron los valores umbral de línea base para determinar la cantidad de cambio con respecto al tratamiento previo al AAV.

La Figura 30C muestra las concentraciones séricas de teprotumumab después de una inyección peribulbar individual de AAV9.smCBA.teprotumumab. AAV9.smCBA.teprotumumab se dosificó a 4.5E11, 1.5E12 y 4.35E12 vg/ojo y muestras de suero tomadas a lo largo del estudio de 12 semanas. La gráfica muestra las concentraciones promedio para cada punto de tiempo por cohorte de dosis con barras de error de desviación estándar. El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de tejido aislado. El LLOQ en el pozo

fue de 50 ng/mL y las muestras por debajo del nivel de cuantificación se imputaron como LLOQ/2 para la representación en el gráfico.

Las Figuras 30D-30E muestran concentraciones de teprotumumab para todos los músculos recolectados de cada animal a las 4 semanas (Figura 30D) o 12 semanas (Figura 30E) después de la administración peribulbar de AAV9.smCBA.teprotumumab. Las concentraciones promedio de teprotumumab por animal se determinaron en los músculos oculares a las 4 semanas y 12 semanas. El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de tejido aislado. El LLOQ en el pocillo fue de 25 ng/mL (músculo). Las muestras por debajo del nivel de cuantificación no se incluyeron en el gráfico. Las líneas punteadas horizontales indican el nivel de proteína mínimamente eficaz predicho (4.5 µg/mL) y el nivel de proteína eficaz (18.5 µg/mL).

Las Figuras 30F-30G muestran concentraciones de teprotumumab por cada sección adiposa a las 4 semanas (Figura 30F) o 12 semanas (Figura 30G) después de la administración peribulbar de AAV9.smCBA.teprotumumab. Las concentraciones promedio de teprotumumab por animal se determinaron en todo el tejido adiposo ocular a las 4 semanas y a las 12 semanas. El teprotumumab se cuantificó mediante ELISA contra la región Fc de IgG humana y se graficó como µg de anticuerpo por mL de

tejido aislado. El LLOQ en el pocillo fue de 4 ng/mL (adiposo). Las muestras por debajo del nivel de cuantificación no se incluyeron en el gráfico.

La Figura 30H muestra las concentraciones relativas de teprotumumab por cada músculo después de la administración peribulbar de AAV9.smCBA.teprotumumab. Se determinaron las concentraciones de teprotumumab para cada músculo ocular y luego se normalizaron a su respectiva cohorte de dosis, la concentración promedio de teprotumumab en el recto lateral. Las muestras al 100% contienen teprotumumab a la misma concentración que el músculo recto lateral promedio dentro de su cohorte de dosis. Las muestras por debajo del nivel de cuantificación no se incluyeron en el gráfico.

La Figura 30I muestra genomas de vectores en músculos oculares de NHP a los que se les administró AAV9.smCBA.teprotumumab peribulbar. Se determinaron copias de genomas de vector por µg de ácido nucleico de entrada mediante cebadores que reconocen la secuencia poliA en un ensayo de qPCR. Todas las muestras por animal se promediaron y graficaron como un punto de datos individual en cada grupo con la barra que representa la media general del grupo. Las barras de error son SEM (cps = copias; OS = ojo izquierdo; OD = ojo derecho; VG = genomas de vector).

La Figura 30J muestra ARNm de teprotumumab en músculos oculares de NHP a los que se les administró

AAV9.smCBA.teprotumumab peribulbar. Se determinaron copias de ARNm por µg de ácido nucleico de entrada mediante cebadores que reconocen la secuencia poliA en un ensayo RT-qPCR. Todas las muestras por animal se promediaron y graficaron como un punto de datos individual en cada grupo con la barra que representa la media general del grupo. Las barras de error son SEM. (cps = copias; OS = ojo izquierdo; OD = ojo derecho). Nota: Los datos de animales de necropsia temprana se removieron de las gráficas.

La Figura 30K muestra genomas de vectores en adiposo orbital de NHP a los que se les administró AAV9.smCBA.teprotumumab peribulbar. Se determinaron copias de genomas de vector por µg de ácido nucleico de entrada mediante cebadores que reconocen la secuencia del gen poliA en un ensayo de qPCR. Todas las muestras por animal se promediaron y graficaron como un punto de datos individual en cada grupo con la barra que representa la media general del grupo. Las barras de error son SEM. (cps = copias; OS = ojo izquierdo; OD = ojo derecho; VG = genomas de vector).

La Figura 30L muestra ARNm en tejido adiposo orbital de NHP a los que se les administró AAV9.smCBA.teprotumumab peribulbar. Se determinaron copias de ARNm por µg de ácido nucleico de entrada mediante cebadores que reconocen la secuencia del gen poliA en un ensayo RT-qPCR. Todas las muestras por animal se promediaron y graficaron como un punto

de datos individual en cada grupo con la barra que representa la media general del grupo. Las barras de error son SEM. (cps = copias; OS = ojo izquierdo; OD = ojo derecho). Nota: Los datos de animales de necropsia temprana se removieron de las gráficas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV. En algunos aspectos, la administración es una inyección periocular. En algunos aspectos, la inyección periocular es una inyección periorbital o una inyección post-septal. En algunos aspectos, la inyección periorbital es una inyección subtenoniana, inyección retrobulbar, inyección subconjuntival o inyección peribulbar. En algunos aspectos, la inyección periorbital es una inyección retrobulbar. En algunos aspectos, la inyección periorbital es una inyección peribulbar.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para administrar una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV a un tejido o tejidos orbitales o un compartimento o compartimentos extraoculares, que comprende inyectar el vector de AAV periocularmente, en donde el o los tejidos orbitales o el o los compartimentos

extraoculares se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculo elevador extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lacrimal, saco lacrimal, película lagrimal o cualquier combinación de los mismos.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una enfermedad ocular tiroidea en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, la administración es una inyección peribulbar. En algunos aspectos, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IGF-1R, un anticuerpo anti-IL-6, un anticuerpo anti-IL-6R, un anticuerpo anti-IL-11, un anticuerpo anti-IL-11R, un anticuerpo anti-FcRn, un anticuerpo anti-TSHR o fragmentos de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el vector de AAV es un AAV recombinante (rAAV, por sus siglas en inglés) que

comprende una cápside de AAV9 que encapsula un genoma de vector que comprende una secuencia codificante de ácido nucleico para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, opcionalmente teprotumumab, flanqueado por un par de repeticiones terminales invertidas (ITR).

I. Definiciones

Con el fin de que la presente descripción pueda entenderse más fácilmente, primero se definen determinados términos. Se exponen definiciones adicionales a lo largo de la descripción detallada.

Cabe señalar que el término "un" o "una" entidad se refiere a una o más de esa entidad; por ejemplo, "una secuencia de ácido nucleico", se entiende que representa una o más secuencias de ácido nucleico, a menos que se indique lo contrario. Como tal, los términos "un" (o "una"), "uno o más" y "al menos uno" se pueden usar indistintamente en la presente.

Además, "y/o", donde se usa en la presente, debe tomarse como una descripción específica de cada una de las dos características o componentes especificados con o sin el otro. Por lo tanto, el término "y/o" como se usa en una frase tal como "A y/o B" en la presente pretende incluir "A y B", "A o B", "A" (solo) y "B" (solo). Del mismo modo, el término "y/o" como se usa en una frase tal como "A, B y/o C" pretende

abarcar cada uno de los siguientes aspectos: A, B y C; A, B o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo); y C (solo).

Los valores numéricos presentados en la presente pueden escribirse o expresarse en notación científica, es decir, $x \times 10^{y}$, o notación E científica *x*E*y*.

Se entiende que dondequiera que se describan aspectos en la presente con el lenguaje "que comprende", también se proporcionan aspectos análogos descritos en términos de "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en".

El término "aproximadamente" se usa en la presente para significar aproximadamente, más o menos, alrededor o en las regiones de. Cuando el término "aproximadamente" se usa junto con un intervalo numérico, modifica ese intervalo al extender los límites por encima y por debajo de los valores numéricos expuestos. En general, el término "aproximadamente" puede modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor indicado mediante una varianza de, por ejemplo, 10 por ciento, hacia arriba o hacia abajo (mayor o menor).

Se entiende que el término "al menos" antes de un número o serie de números incluye el número adyacente al término "al menos" y todos los números o enteros posteriores que podrían incluirse lógicamente, como se desprende del contexto. Por ejemplo, el número de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico debe ser un número entero. Por

ejemplo, "al menos 18 nucleótidos de una molécula de ácido nucleico de 21 nucleótidos" significa que 18, 19, 20 o 21 nucleótidos tienen la propiedad indicada. Cuando al menos está presente antes de una serie de números o un intervalo, se entiende que "al menos" puede modificar cada uno de los números en la serie o intervalo. "Al menos" tampoco se limita a números enteros (por ejemplo, "al menos 5%" incluye 5.0%, 5.1%, 5.18% sin tener en cuenta la cantidad de cifras significativas).

Como se usa en la presente, "no más de" o "menos de" se entiende como el valor adyacente a la frase y los valores lógicos inferiores o enteros, como lógico desde el contexto, hasta cero. Cuando "no más de" está presente antes de una serie de números o un intervalo, se entiende que "no más de" puede modificar cada uno de los números en la serie o intervalo.

El término "derivado de", tal como se usa en la presente, se refiere a un componente que se aísla de o se fabrica usando una molécula u organismo específico, o información (por ejemplo, secuencia de aminoácidos o ácido nucleico) de la molécula u organismo específico. Por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico (por ejemplo, un vector de AAV) que se deriva de una segunda secuencia de ácido nucleico (por ejemplo, otro vector de AAV) puede incluir una secuencia de nucleótidos que es idéntica o sustancialmente similar a la

secuencia de nucleótidos de la segunda secuencia de ácido nucleico. En el caso de un polinucleótido descrito en la presente, las especies derivadas se pueden obtener, por ejemplo, mediante mutagénesis de origen natural, mutagénesis dirigida artificial o mutagénesis aleatoria artificial.

El término "unido operativamente" significa que una secuencia de ácido nucleico (por ejemplo, una región codificante tal como un gen de interés) y una o más secuencias reguladoras (por ejemplo, un promotor, un potenciador o un silenciador) están dispuestas de tal manera que permiten la expresión génica cuando las moléculas apropiadas (por ejemplo, proteínas activadoras de la transcripción) están unidas a la o las secuencias reguladoras. En algunos aspectos, donde una secuencia de ácido nucleico reguladora (por ejemplo, un promotor, un potenciador o un silenciador) está unida operativamente, a una región codificante, la región codificante está "bajo control transcripcional" de la secuencia de ácido nucleico reguladora. El término "insertado operativamente" significa que una secuencia de ácido nucleico de interés se coloca adyacente a una secuencia de ácido nucleico reguladora que dirige la transcripción y traducción de la secuencia de ácido nucleico de interés (es decir, facilita la producción de, por ejemplo, un polipéptido codificado por un ADN de interés).

"Porcentaje (%) de identidad de secuencia" o

"Porcentaje (%) de identidad" con respecto a una secuencia de polinucleótido o polipéptido de referencia se define como el porcentaje de ácidos nucleicos o aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los ácidos nucleicos o aminoácidos en la secuencia de polinucleótido o polipéptido de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia. La alineación con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de ácidos nucleicos o aminoácidos se puede lograr de varias maneras que están dentro de las capacidades de un experto en la técnica, por ejemplo, usando software informático disponible públicamente tal como software BLAST, BLAST-2 o Megalign. Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para alinear secuencias, incluido cualquier algoritmo necesario para lograr la alineación máxima en toda la longitud de las secuencias que se comparan. Por ejemplo, los valores de porcentaje de identidad de secuencia se pueden generar usando el programa informático de comparación de secuencias BLAST.

Como se usa en la presente, el término "modificado" se refiere a un estado o estructura cambiado de una molécula de la descripción. Las moléculas pueden modificarse de muchas maneras, incluidas química, estructural y funcionalmente.

Como se usa en la presente, el término "sintético"

significa producido, preparado y/o fabricado por la mano del hombre. La síntesis de polinucleótidos o polipéptidos u otras moléculas de la presente descripción puede ser química o enzimática.

Los términos "ácido nucleico", "polinucleótido" y "oligonucleótido" se usan indistintamente en la presente solicitud. Estos términos se refieren solo a la estructura primaria de la molécula. Por lo tanto, estos términos incluyen ADN de doble hebra y de hebra individual, así como ARN de doble hebra y de hebra individual. Los términos "ácido nucleico", "polinucleótido" y "oligonucleótido", tal como se usan en la presente, se definen, tal como lo entiende generalmente el experto en la técnica, como una molécula que comprende dos o más nucleósidos unidos covalentemente. Estos nucleósidos unidos covalentemente también pueden denominarse moléculas de ácido nucleico u oligómeros. Los polinucleótidos pueden prepararse de forma recombinante, enzimática o sintética, por ejemplo, mediante síntesis química en fase sólida seguida de purificación. Cuando se hace referencia a una secuencia del polinucleótido o ácido nucleico, se hace referencia a la secuencia u orden de las porciones de nucleobases, o modificaciones de los mismos, de los nucleótidos o nucleósidos unidos covalentemente.

El término "ARNm", tal como se usa en la presente, se refiere a un ARN de hebra individual que codifica la

secuencia de aminoácidos de una o más cadenas de polipéptidos.

Una "secuencia codificante" o una secuencia "que codifica" una molécula particular (por ejemplo, una proteína o péptido terapéutico) es un ácido nucleico que se transcribe (en el caso del ADN) o se traduce (en el caso del ARNm) en un polipéptido, *in vitro* o *in vivo*, cuando se une operativamente a una secuencia reguladora apropiada, tal como un promotor. Los límites de la secuencia codificante están determinados por un codón de inicio en el extremo 5’ (amino-terminal) y un codón de terminación de la traducción en el extremo 3' (carboxi-terminal). Una secuencia codificante puede incluir, pero no limitarse a, ADNc de ARNm procariota o eucariota, secuencias de ADN genómico de ADN procariota o eucariota y secuencias de ADN sintético. Una secuencia de terminación de la transcripción generalmente se ubicará 3’ con respecto a la secuencia codificante.

Como se usa en la presente, el término "promotor" se refiere a una secuencia de ADN reconocida por la maquinaria de una célula *in vivo*, o por una maquinaria sintética *in vitro*, o *in vivo* por la maquinaria sintética introducida en la célula, requerida para iniciar la transcripción específica de un gen. En algunos aspectos, el término promotor también pretende abarcar aquellos elementos de ácido nucleico suficientes para la expresión génica dependiente del promotor

controlable para el tipo celular específico, específico de tejido o inducible por señales o agentes externos; estos elementos pueden ubicarse en las regiones 5’ o 3' del gen natural. En algunos aspectos, el promotor es un promotor constitutivo, un promotor específico de tipo celular o un promotor inducible.

Como se usa en la presente, el término "promotor regulable" es cualquier promotor cuya actividad se ve afectada por un factor de acción cis o trans (por ejemplo, un promotor inducible, tal como una señal o agente externo).

Como se usa en la presente, el término "promotor constitutivo" es cualquier promotor que dirige la producción de ARN en muchos o todos los tipos de tejido/célula en la mayoría de los momentos, por ejemplo, la región potenciadora/promotora temprana inmediata de CMV humano que promueve la expresión constitutiva de insertos de ADN clonados en células de mamífero.

Como se usa en la presente, el término "promotores ubicuos" es cualquier promotor que es fuertemente activo en una amplia gama de células, tejidos y ciclos celulares.

Como se usa en la presente, el término "promotor bidireccional" es la región intergénica entre dos genes divergentes ubicados en cadenas complementarias del ADN, que impulsa su transcripción coordinada en direcciones opuestas.

Como se usa en la presente, el término "promotor

específico de tejido", se refiere a un promotor que tiene actividad solo en determinados tipos de células, es decir, impulsa la expresión de la secuencia de nucleótidos unida operativamente solo en determinados tipos de células.

Como se usa en la presente, el término "potenciador" es un elemento que actúa en cis que estimula la transcripción de un ácido nucleico (por ejemplo, un gen). Como se usa en la presente, el término "silenciador" es un elemento de acción cis que inhibe la transcripción de un ácido nucleico (por ejemplo, un gen). Los potenciadores pueden funcionar (por ejemplo, pueden estar asociados con una secuencia codificante) en cualquier orientación, a lo largo de distancias de hasta varios pares de kilobases (kb) desde la secuencia codificante y desde una posición en dirección 5’ de una región transcrita.

Como se usa en la presente, el término "secuencia señal de terminación" puede ser cualquier elemento genético que haga que la ARN polimerasa termine la transcripción, tal como, por ejemplo, una secuencia señal de poliadenilación. Una secuencia señal de poliadenilación es una región de reconocimiento necesaria para la escisión por endonucleasa de un transcrito de ARN que va seguido de la secuencia consenso de poliadenilación AATAAA. Una secuencia señal de poliadenilación proporciona un "sitio poliA", es decir, un sitio en un transcrito de ARN al que se adiciorán residuos de

adenina mediante poliadenilación postranscripcional.

Como se usa en la presente, el término "sitio interno de entrada al ribosoma" o "IRES" se refiere a un elemento que promueve la entrada directa del ribosoma interno al codón de iniciación, tal como ATG, de un cistrón (una región codificante de proteínas), que conduce de esta manera a la traducción independiente de caperuza del gen. Ver, por ejemplo, Jackson R J *et al*., Trends Biochem Sci 15(12):477-83 (199); Jackson R J and Kaminski, A. RNA 1(10):985-1000 (1995). "Bajo el control de la traducción de un IRES", como se usa en la presente, significa que la traducción está asociada con el IRES y procede de manera independiente de la tapa.

Como se usa en la presente, los términos "mutación" o "polimorfismo" se refieren a cualquier cambio de la estructura de un gen, lo que resulta en una variante genética (también llamada "mutante" o "alelo polimórfico"). Las variantes genéticas pueden ocurrir en células somáticas o en células de la línea germinal. Las variantes genéticas que se producen en la línea germinal pueden transmitirse a generaciones posteriores. Las variantes genéticas pueden ocurrir en regiones codificantes o no codificantes, y pueden ser provocadas por la alternancia de una base individual en el ADN, o la supresión, inserción o reordenamiento de secciones más grandes de genes o cromosomas.

El término "antisentido", tal como se usa en la presente, se refiere a un ácido nucleico que es suficientemente complementario a todo o una porción de un gen, transcripción primaria o ARNm procesado, para interferir con la expresión del gen endógeno. Los polinucleótidos "complementarios" son aquellos que son capaces de emparejamiento de bases de acuerdo con las reglas de complementariedad estándar Watson-Crick. Específicamente, las purinas se emparejarán con pirimidinas para formar una combinación de guanina emparejada con citosina (G:C) y adenina emparejada con timina (A:T) en el caso del ADN, o adenina emparejada con uracilo (A:U) en el caso del ARN. Se entiende que dos polinucleótidos pueden hibridarse entre sí incluso si no son completamente complementarios entre sí, siempre que cada uno tenga al menos una región que sea sustancialmente complementaria a la otra.

Los términos "hebra antisentido" y "hebra guía" se refieren a la hebra de ADN no codificante de un gen. La hebra antisentido sirve como molde para producir ARN mensajero (ARNm) y, en ausencia de cualquier alteración en el proceso de transcripción, es complementaria al ARNm transcrito. Una molécula de ácido nucleico que incluye una región que es sustancialmente complementaria a un ARNm, comprende una secuencia sustancialmente idéntica a la hebra antisentido, por lo que tiene suficiente complementariedad con la

secuencia de ARNm diana para dirigir el silenciamiento específico de la diana.

Los términos "hebra sentido" y "hebra pasajera", tal como se usan en la presente, se refieren a la cadena de ADN codificante de un gen. En ausencia de cualquier alteración en el proceso de transcripción, la cadena sentido comprende la misma secuencia del ARNm transcrito (excepción hecha para la T en el ADN que se transcribe en U en el ARN). Las hebras antisentido y sentido se hibridan para formar una estructura dúplex.

El término "vector de expresión" o "construcción de expresión" significa cualquier tipo de construcción genética que contiene un ácido nucleico en el que parte o toda la secuencia codificante de ácido nucleico es capaz de transcribirse. En algunos aspectos, el vector o construcción de expresión puede comprender un casete de expresión de anticuerpo.

Como se usa en la presente, el término "vector de administración" o "vector" se refiere a cualquier vehículo para la clonación y/o transferencia de un ácido nucleico en una célula hospedadora, tal como un plásmido, fago, transposón, cósmido, cromosoma, cromosoma artificial, virus, virión, etc. Un vector puede ser un replicón al que se puede unir otro segmento de ácido nucleico para provocar la replicación del segmento unido. Un "replicón" se refiere a

cualquier elemento genético (por ejemplo, plásmido, fago, cósmido, cromosoma, virus) que funciona como una unidad autónoma de replicación in vivo, es decir, capaz de replicarse bajo su propio control. El término "vector de administración" o "vector" incluye vehículos tanto virales como no virales para introducir el ácido nucleico en una célula *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. Se conoce y se usa una gran cantidad de vectores en la técnica que incluyen, por ejemplo, plásmidos, virus eucariotas modificados o virus bacterianos modificados. En algunos aspectos, la inserción de un polinucleótido en un vector adecuado se puede lograr al ligar los fragmentos de polinucleótido apropiados en un vector elegido que tiene extremos cohesivos complementarios. Los vectores pueden modificarse genéticamente para codificar marcadores o indicadores seleccionables que proporcionan la selección o identificación de células que han incorporado el vector. La expresión de marcadores o indicadores seleccionables permite la identificación y/o selección de células hospedadoras que incorporan y expresan otras regiones codificantes contenidas en el vector. Los ejemplos de genes marcadores seleccionables conocidos y usados en la técnica incluyen: genes que proporcionan resistencia a ampicilina, estreptomicina, gentamicina, kanamicina, higromicina, herbicida de bialafos, sulfonamida y similares; y genes que se usan como marcadores fenotípicos, es decir, genes

reguladores de antocianina, gen de isopentanil transferasa y similares. Los ejemplos de indicadores conocidos y usados en la técnica incluyen: luciferasa (Luc), proteína fluorescente verde (GFP, por sus siglas en inglés), cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), β-galactosidasa (LacZ), β-glucuronidasa (Gus) y similares. Los marcadores seleccionables también pueden considerarse informadores. En algunos aspectos, el vector de administración se selecciona del grupo que consiste en un vector viral (por ejemplo, un vector de AAV), un plásmido, un lípido, una partícula de proteína, un vector bacteriano y un lisosoma.

Algunos aspectos de la descripción están dirigidos a vectores biológicos, que pueden incluir virus, particularmente virus atenuados y/o deficientes en la replicación.

Un "vector viral" se refiere a un componente derivado de virus que se puede usar para transportar y/o administrar una carga útil (por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que comprende una o más regiones de polinucleótidos que codifican o comprenden una molécula de interés, por ejemplo, una proteína, un péptido y un oligonucleótido o una pluralidad de los mismos). Los vectores virales se pueden usar para administrar materiales genéticos a las células. Los vectores virales se pueden modificar para aplicaciones específicas. En algunos aspectos, el vector de administración

de la descripción es un vector viral seleccionado del grupo que consiste en un vector viral adenoasociado (AAV, por sus siglas en inglés), un vector adenoviral, un vector lentiviral o un vector retroviral.

El término "vector de virus adenoasociado" o "vector de AAV" o "vector viral adenoasociado", tal como se usa en la presente, se refiere a cualquier vector que comprende o se deriva de componentes de un vector adenoasociado y es adecuado para infectar células de mamífero, preferentemente células humanas. En algunos aspectos, el término vector de AAV puede designar una partícula o virión viral de tipo AAV que comprende una carga útil. El vector de AAV puede derivar de varios serotipos, que incluyen combinaciones de serotipos (es decir, AAV "pseudotipado") o de varios genomas (por ejemplo, de hebra individual o autocomplementario). En algunos aspectos, el pseudotipo de AAV incluye ITR de AAV2 y cápsides de otros vectores AAV conocidos (por ejemplo, un AAV2/8 o AAV2/9, a los que se hace referencia comúnmente en la presente por su serotipo de cápside, por ejemplo, AAV8 o AAV9, respectivamente). Además, el vector de AAV puede ser defectuoso en la replicación y/o dirigido. Como se usa en la presente, el término "virus adenoasociado" (AAV), incluye, pero no se limita a, AAV tipo 1, AAV tipo 2, AAV tipo 3 (incluidos los tipos 3A y 3B), AAV tipo 4, AAV tipo 5, AAV tipo 6, AAV tipo 7, AAV tipo 8, AAV tipo 9, AAV tipo 10, AAV

tipo 11, AAV tipo 12, AAV tipo 13, AAV14, AAV15, AAV16, AAVS3, AAVrh8, AAVrh10, AAVrh.74, AAV type 9e, AAVrh.20, AAVrh.39, AAVrh.46, AAVrh.73, AAVrh.74, AAVhu.12, AAVhu.21, AAVhu.26, AAVhu.37, AAVhu.51, AAV.RHM4-1, AAV.Anc80, AAV.7m8, AAV.PHP.B, AAV.PHP.eB, AAV2.5, AAV2tYF, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13, AAV.HSC14, AAV.HSC15, AAV.HSC16, AAV de serpiente, AAV aviar, AAV bovino, AAV canino, AAV equino, AAV ovino, AAV de cabra, AAV del camarón (gamba), esos serotipos y clados de AAV descritos por Gao *et al*. (J. Virol. 78:6381 (2004)) y Moris *et al*. (Virol. 33:375 (2004)), y cualquier otro AAV ahora conocido o descubierto posteriormente. Ver, por ejemplo, FIELDS *et al*. VIROLOGY, volume 2, capítulo 69 (4ta ed., Lippincott-Raven Publishers). En algunos aspectos, un "vector de AAV" incluye un derivado de un vector de AAV conocido. En algunos aspectos, un "vector de AAV" incluye un vector de AAV modificado o artificial. En algunos aspectos, un vector de AAV incluye un vector híbrido (por ejemplo, AAV-DJ, AAV-PHP.B, AAV2-ESGHGYF, AAVM41, AAV-LK03, AAV2-BR1, AAV587MTP, AAV-Anc80L65, AAV2-7m8, AAV2HBKO, AAV2YF, AAV6-RGD o AAV6.2). En algunos aspectos, los términos "genoma de AAV" y "vector de AAV" se pueden usar indistintamente. En algunos aspectos, el vector de AAV se modifica con respecto a la secuencia de serotipo de AAV de tipo silvestre. En algunos

aspectos, el vector de AAV modificado es un AAV6 modificado, por ejemplo, un vector de AAV6 que comprende el péptido RGD (un vector de AAV6-RGD) o un vector de AAV6 que comprende mutaciones de residuos de tirosina expuestos en la superficie como se describe, por ejemplo, en Sayroo *et al*. Gene Ther. Ene 2016; 23(1):18-25. En algunos aspectos, el vector de AAV6-RGD comprende además aminoácidos modificados correspondientes a Y705, Y731, T492 y K531 (por ejemplo, Y705, Y731F, T492V y K531E; también denominado AAV-RGD-Y705-731F+T492V+K531E).

Como se usa en la presente, "virus adenoasociado autocomplementario" o "scAAV" es un vector viral modificado genéticamente a partir del AAV de origen natural de modo que la región codificante se haya diseñado para formar una plantilla de ADN de doble hebra intramolecular. Por lo tanto, tras la infección de una célula con un scAAV, en lugar de esperar la síntesis mediada por células de la segunda cadena, las dos mitades complementarias de scAAV se asociarán para formar una unidad de ADN de doble hebra (ADNdh) que está lista para la replicación y la transcripción. En algunos aspectos, la capacidad de codificación encontrada en un rAAV habitual (por ejemplo, aproximadamente 4.7-6 kb) se reduce en aproximadamente la mitad en un scAAV (por ejemplo, 2.4 kb). En algunos aspectos, el rAAV es un scAAV.

Como se usa en la presente, una "partícula de AAV

recombinante", "vector de AAV recombinante", "partícula de rAAV" o "vector rAAV" se refiere a un vector de AAV que comprende una proteína de la cápside y un genoma de vector (o un genoma de AAV, por ejemplo, al menos una región de repetición terminal invertida (ITR)) que comprende al menos una región de carga útil (por ejemplo, un casete de expresión que incluye un polinucleótido que codifica para un agente terapéutico). En algunos aspectos, los "vectores de AAV de la presente descripción" o "vectores de AAV" se refieren a vectores de AAV que comprenden un polinucleótido que codifica para un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R, un anticuerpo anti-IL6, un anticuerpo anti-FcRn, un anticuerpo anti-TSHR, un anticuerpo anti-IL11, un anticuerpo anti-IL6-R o un anticuerpo anti-IL11R) y un genoma de vector que comprende un par de ITR de AAV, por ejemplo, encapsuladas en una partícula de AAV.

Como se usa en la presente, un "agente terapéutico" se refiere a un compuesto (por ejemplo, un compuesto químico), un péptido, una proteína (por ejemplo, un anticuerpo), un lípido, un carbohidrato, un ácido nucleico o cualquier otra molécula o compuesto capaz de tratar, mejorar o reducir los síntomas de una enfermedad, un trastorno, una condición o un síndrome, o que tiene un efecto benéfico, después de la administración a un sujeto que padece la enfermedad, trastorno, condición o síndrome.

Como se usa en la presente, el término "polipéptido" pretende abarcar un "polipéptido" singular, así como "polipéptidos" plurales, y comprende cualquier cadena o cadenas de dos o más aminoácidos. Por lo tanto, como se usa en la presente, un "péptido", una "subunidad peptídica", una "proteína", una "cadena de aminoácidos", una "secuencia de aminoácidos" o cualquier otro término usado para referirse a una cadena o cadenas de dos o más aminoácidos, se incluyen en la definición de un "polipéptido", incluso aunque cada uno de estos términos pueda tener un significado más específico. El término "polipéptido" se puede usar en lugar de, o indistintamente con cualquiera de estos términos. El término incluye además polipéptidos que han sufrido modificaciones posteriores a la traducción o a la síntesis, por ejemplo, conjugación de un grupo palmitoilo, glicosilación, acetilación, fosforilación, amidación, derivatización por grupos protectores/bloqueadores conocidos, escisión proteolítica o modificación por aminoácidos de origen no natural. El término "péptido", tal como se usa en la presente, abarca péptidos de longitud completa y fragmentos, variantes o derivados de los mismos. Un "péptido", tal como se describe en la presente, puede ser parte de un polipéptido de fusión que comprende componentes adicionales tal como, por ejemplo, un dominio Fc o un dominio de albúmina, para aumentar la semivida. Un péptido como se describe en la

presente también se puede derivatizar de varias maneras diferentes. Un péptido descrito en la presente puede comprender modificaciones que incluyen, por ejemplo, conjugación de un grupo palmitoilo.

El término "subunidad" se refiere a un polipéptido que se puede ensamblar con otro polipéptido para formar una proteína que comprende dos o más subunidades (por ejemplo, una inmunoglobulina (Ig)). En algunos aspectos, un vector de administración de la descripción puede incluir una región codificante para cada una de las subunidades. Por ejemplo, un vector viral puede incluir tanto la región codificante para la cadena pesada de Ig (o la región variable de la cadena pesada de Ig) como la región codificante para la cadena ligera de Ig (o la región variable de la cadena ligera de Ig).

Los términos "proteína reguladora transcripcional", "factor regulador transcripcional" y "factor de transcripción" se usan indistintamente en la presente, y se refieren a una proteína nuclear que se une a un elemento de respuesta de ADN y, de esta manera, regula transcripcionalmente la expresión de un gen o genes asociados. Las proteínas reguladoras de la transcripción generalmente se unen directamente a un elemento de respuesta de ADN, sin embargo, en algunos casos la unión al ADN puede ser indirecta por medio de la unión a otra proteína que a su

vez se une a, o se une a un elemento de respuesta de ADN.

El término "sitio de escisión de autoprocesamiento" o "secuencia de escisión de autoprocesamiento", tal como se usa en la presente, se refiere a un sitio o secuencia de escisión de procesamiento postraduccional o cotraduccional. Este sitio o secuencia de "escisión de autoprocesamiento" se refiere a una secuencia de ADN o aminoácidos, ejemplificada en la presente por un sitio, secuencia o dominio 2A o un sitio, secuencia o dominio similar a 2A. El término "péptido de autoprocesamiento" se define en la presente como el producto de expresión peptídica de la secuencia de ADN que codifica para un sitio o secuencia de escisión de autoprocesamiento, que tras la traducción, media en la escisión intramolecular (cis) rápida de una proteína o polipéptido que comprende el sitio de escisión de autoprocesamiento para producir productos de proteína o polipéptido maduros discretos.

Como se usa en la presente, el término "sitio de escisión proteolítica, adicional" se refiere a una secuencia que se incorpora en una construcción de expresión de la descripción adyacente a un sitio de escisión de autoprocesamiento, tal como una secuencia 2A o similar a 2A, y proporciona un medio para remover aminoácidos adicionales que permanecen después de la escisión por la secuencia de escisión de autoprocesamiento. Los péptidos 2A de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, P2A, E2A, F2A y T2A. Los

"sitios de escisión proteolítica adicionales" de ejemplo se describen en la presente e incluyen, pero no se limitan a, sitios de escisión de furina con la secuencia consenso RXKRR o RXKR. Estos sitios de escisión de furina se pueden escindir mediante proteasas endógenas de tipo subtilisina, tal como furina y otras serina proteasas dentro de la vía de secreción de proteínas. En algunos aspectos, se pueden usar otros "sitios de escisión proteolítica, adicionales" de ejemplo, como se describe, por ejemplo, en Lie *et al*., Sci Rep 7, 2193 (2017).

Los términos "anticuerpo" y "anticuerpos" se refieren a una molécula de inmunoglobulina que reconoce y se une específicamente a una diana, tal como una proteína, polipéptido, péptido, carbohidrato, polinucleótido, lípido o combinaciones de los anteriores a través de al menos un sitio de reconocimiento de antígeno dentro de la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Como se usa en la presente, el término "anticuerpo" abarca anticuerpos policlonales intactos, anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, proteínas de fusión que comprenden un anticuerpo y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada, siempre que los anticuerpos muestren la actividad biológica deseada. Un anticuerpo puede ser de cualquiera de las cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, o

subclases (isotipos) de las mismas (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2), en función de la identidad de sus dominios constantes de cadena pesada denominados alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las diferentes clases de inmunoglobulinas tienen estructuras de subunidades y configuraciones tridimensionales diferentes y bien conocidas.

El término "inmunoglobulina" se usa en la presente para incluir anticuerpos, fragmentos funcionales de los mismos, Fab, scFv, anticuerpos de dominio individual (por ejemplo, nanocuerpos), DART, F(ab')2, BITE e inmunoadhesinas. Estos fragmentos de anticuerpo o construcciones artificiales pueden incluir un anticuerpo de cadena individual, un fragmento Fab, un anticuerpo univalente, un anticuerpo bivalente o multivalente o una inmunoadhesina. La construcción de anticuerpo de unión o neutralización puede ser un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo "humanizado", un anticuerpo multivalente u otra construcción adecuada. Una "molécula de inmunoglobulina" es una proteína que contiene las porciones inmunológicamente activas de una cadena pesada de inmunoglobulina y una cadena ligera de inmunoglobulina acopladas covalentemente conjuntamente y capaces de combinarse específicamente con un antígeno. Las moléculas de inmunoglobulina son de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase. Los términos "anticuerpo" e

"inmunoglobulina" se pueden usar indistintamente en la presente. Una "cadena pesada de inmunoglobulina" es un polipéptido que contiene al menos una porción del dominio de unión al antígeno de una inmunoglobulina y al menos una porción de una región variable de una cadena pesada de inmunoglobulina. Por lo tanto, la cadena pesada derivada de inmunoglobulina tiene regiones significativas de homología de secuencia de aminoácidos con un miembro de la superfamilia de genes de inmunoglobulina. Por ejemplo, la cadena pesada en un fragmento Fab es una cadena pesada derivada de inmunoglobulina. Una "cadena ligera de inmunoglobulina" es un polipéptido que contiene al menos una porción del dominio de unión al antígeno de una inmunoglobulina y al menos una porción de la región variable. Por lo tanto, la cadena ligera derivada de inmunoglobulina tiene regiones significativas de homología de aminoácidos con un miembro de la superfamilia de genes de inmunoglobulina. Una "inmunoadhesina" es una molécula quimérica similar a un anticuerpo que combina el dominio funcional de una proteína de unión, generalmente un receptor, ligando, molécula de adhesión celular o 1-2 dominios variables de inmunoglobulina con dominios constantes de inmunoglobulina, que generalmente incluyen la bisagra o el enlazador GS y las regiones Fc. Un "fragmento de unión a antígeno" (Fab) " es una región de un anticuerpo que se une a antígenos. Se compone de un dominio constante y uno variable

de cada una de las cadenas pesada y ligera. Con respecto a las inmunoglobulinas o anticuerpos como se describe en la presente, cada fragmento de una secuencia codificante de inmunoglobulina puede derivar de una o más fuentes, o sintetizarse. Los fragmentos adecuados pueden incluir la región codificante para uno o más de, por ejemplo, una cadena pesada, una cadena ligera y/o fragmentos de las mismas, tal como la región constante o variable de una cadena pesada (CH1, CH2 y/o CH3) y/o la región constante o variable de una cadena ligera. De manera alternativa, se pueden usar regiones variables de una cadena pesada o cadena ligera. Cuando corresponda, estas secuencias se pueden modificar a partir de las secuencias "nativas" de las que se derivan, como se describe en la presente. Como se usa en la presente, el término "construcción de inmunoglobulina" se refiere a cualquiera de las inmunoglobulinas anteriores o fragmentos de las mismas que están codificadas e incluidas en los casetes de expresión descritos en la presente. La construcción de inmunoglobulina codificada e incluida en los casetes de expresión descritos en la presente puede estar en una combinación que comprende la construcción de inmunoglobulina y los vectores virales descritos en la presente.

El término "fragmento de anticuerpo" se refiere a una porción de un anticuerpo intacto. Un "fragmento de unión a antígeno", "dominio de unión al antígeno" o "región de unión

al antígeno", se refiere a una porción de un anticuerpo intacto que se une a un antígeno. Un fragmento de unión a antígeno puede contener un sitio de reconocimiento de antígeno de un anticuerpo intacto (por ejemplo, regiones determinantes de complementariedad (CDR) suficientes para unirse al antígeno). Los ejemplos de fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, fragmentos Fab, Fab', F(ab')2 y Fv, anticuerpos lineales y anticuerpos de cadena simple (por ejemplo, nanocuerpos). Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede derivar de cualquier especie animal, tal como roedores (por ejemplo, ratón, rata o hámster) y humanos o puede producirse artificialmente.

El término "nanocuerpo" o "nanocuerpos" o "anticuerpo de dominio individual" o "sdAb" se refiere a una clase de fragmentos de unión al antígeno que es una molécula de inmunoglobulina de cadena individual que consiste en un dominio de anticuerpo variable monomérico, que reconoce y se une específicamente a un antígeno.

El término anticuerpo "monoclonal" o fragmento de unión a antígeno del mismo se refiere a una población homogénea de anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno involucrada en el reconocimiento y la unión altamente específicos de un epítopo o determinante antigénico individual. Esto está en contraste con los anticuerpos

policlonales que habitualmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes antigénicos. El término anticuerpo "monoclonal" o fragmento de unión a antígeno del mismo abarca anticuerpos monoclonales tanto intactos como de longitud completa, así como fragmentos de anticuerpo (tal como Fab, Fab', F(ab')2, Fv), mutantes de cadena simple (scFv), proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprenda un sitio de reconocimiento de antígeno. Además, un anticuerpo "monoclonal" o fragmento de unión a antígeno del mismo se refiere a estos anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos preparados de cualquier número de maneras que incluyen, pero no se limitan a, hibridoma, selección de fagos, expresión recombinante y animales transgénicos.

El término "anticuerpo monoclonal completamente humano", tal como se usa en la presente, se refiere a un tipo de anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden ser, pero no limitarse a, murinos, quimeras, humanizados o completamente humanos, dependiendo de la cantidad de secuencia derivada del genoma murino o humano. Los anticuerpos monoclonales murinos comprenden solo la secuencia codificante del anticuerpo derivado de murino. Los anticuerpos monoclonales de las quimeras comprenden secuencias codificantes de anticuerpos tanto de origen murino

como humano. Los anticuerpos monoclonales humanizados son una extensión de quimeras en las que todas las regiones de la secuencia codificante de anticuerpos murinos se reemplazan con secuencias codificantes de anticuerpos humanos, con la excepción de las secuencias codificantes de CDR. Los anticuerpos monoclonales completamente humanos comprenden solo secuencias codificantes de anticuerpos humanos y no tienen secuencia codificante de anticuerpos murinos.

El término "anticuerpo vectorizado", tal como se usa en la presente, se refiere a un vector de administración (por ejemplo, un vector viral) que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica para un anticuerpo o un derivado del mismo.

El término "biespecífico" o "anticuerpo bifuncional" o fragmento de unión a antígeno del mismo se refiere a un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos pares de cadenas pesadas/ligeras diferentes y dos sitios de unión diferentes. Los anticuerpos biespecíficos se pueden producir mediante una variedad de métodos que incluyen la fusión de hibridomas o la unión de fragmentos Fab'. Ver, por ejemplo, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelny *et al.*, J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992).

El término "anticuerpo multiespecífico" se refiere a un anticuerpo que tiene especificidades por dos o más epítopos diferentes, habitualmente epítopos no superpuestos o

un anticuerpo que contiene más de dos sitios de unión al antígeno distintos.

Como se usa en la presente, los términos "región variable" o "dominio variable" se usan indistintamente y son comunes en la técnica. La región variable habitualmente se refiere a una porción de un anticuerpo, generalmente, una porción de una cadena ligera o pesada, habitualmente aproximadamente extremo amino-terminal 110 a 120 aminoácidos o 110 a 125 aminoácidos en la cadena pesada madura y aproximadamente 90 a 115 aminoácidos en la cadena ligera madura, que difieren ampliamente en secuencia entre anticuerpos y se usan en la unión y especificidad de un anticuerpo particular para su antígeno particular. La variabilidad en la secuencia se concentra en aquellas regiones llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), mientras que las regiones más altamente conservadas en el dominio variable se denominan regiones marco (FR, por sus siglas en inglés). Sin querer limitarse a ningún mecanismo o teoría en particular, se cree que las CDR de las cadenas ligera y pesada son las principales responsables de la interacción y especificidad del anticuerpo con el antígeno. En algunos aspectos, la región variable es una región variable humana. En algunos aspectos, la región variable comprende CDR de roedores o murinos y regiones marco (FR) humanas. En algunos aspectos, la región variable es una

región variable de primate (por ejemplo, primate no humano). En algunos aspectos, la región variable comprende CDR de roedor o murino y regiones marco (FR) de primate (por ejemplo, primate no humano).

Los términos "VL" y "dominio VL" se usan indistintamente para referirse a la región variable de cadena ligera de un anticuerpo.

Los términos "VH" y "dominio VH" se usan indistintamente para referirse a la región variable de cadena pesada de un anticuerpo.

Las regiones VH y VL se pueden subdividir además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada VH y VL se compone de tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino-terminal hasta el extremo carboxi-terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar la unión de la inmunoglobulina a los tejidos o factores del hospedador, que incluyen varias células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema de complemento clásico.

El término "numeración de Kabat" y términos similares se reconocen en la técnica y se refieren a un sistema de numeración de residuos de aminoácidos en las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertos aspectos, las CDR se pueden determinar de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat (ver, por ejemplo, Kabat EA & Wu TT (1971) Ann NY Acad Sci 190: 382-391 y Kabat EA *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). Usando el sistema de numeración de Kabat, las CDR dentro de una molécula de cadena pesada de anticuerpo están habitualmente presentes en las posiciones de aminoácidos 31 a 35, que opcionalmente pueden incluir uno o dos aminoácidos adicionales, después de 35 (denominado en el esquema de numeración de Kabat como 35A y 35B) (CDR1), las posiciones de aminoácidos 50 a 65 (CDR2) y las posiciones de aminoácidos 95 a 102 (CDR3). Usando el sistema de numeración de Kabat, las CDR dentro de una molécula de cadena ligera de anticuerpo están habitualmente presentes en las posiciones de aminoácidos 24 a 34 (CDR1), las posiciones de aminoácidos 50 a 56 (CDR2) y las posiciones de aminoácidos 89 a 97 (CDR3). En algunos aspectos, las CDR de los anticuerpos descritos en la presente se pueden determinar de acuerdo con el esquema de numeración de Kabat.

El término "numeración de Chothia" y términos similares se reconocen en la técnica y se refieren a un sistema de numeración de residuos de aminoácidos en las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertos aspectos, las CDR se pueden determinar de acuerdo con el sistema de numeración de Chothia (ver, por ejemplo, Chothia C & Lesk AM (1987) J Mol Biol 196:901-17 y Chothia C *et al.*, (1989 Nature 342:877-83). El término "numeración de IMGT®" y términos similares se reconocen en la técnica y se refieren a un sistema de numeración de residuos de aminoácidos en las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertos aspectos, las CDR se pueden determinar de acuerdo con el sistema de numeración IMGT® (ver, por ejemplo, Lefranc M P, *et al.*, (1997) Immunol Today 18:509 y Lefranc M P *et al* (2003) Dev Comp Immunol 27:55-77). En algunos aspectos, las CDR de los anticuerpos descritos en la presente se pueden determinar de acuerdo con el esquema de numeración IMGT®.

Como se usa en la presente, el término "región constante" o "dominio constante" son intercambiables y tienen el significado común en la técnica. La región constante es una porción de anticuerpo, por ejemplo, una porción carboxilo terminal de una cadena ligera y/o pesada que no está directamente involucrada en la unión de un anticuerpo al

antígeno, pero que puede exhibir diversas funciones efectoras, tal como la interacción con el receptor Fc. La región constante de una molécula de inmunoglobulina generalmente tiene una secuencia de aminoácidos más conservada en relación con un dominio variable de inmunoglobulina. En ciertos aspectos, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una región constante o porción de la misma que es suficiente para la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC).

Como se usa en la presente, el término "cadena pesada" cuando se usa en referencia a un anticuerpo puede hacer referencia a cualquier tipo distinto, por ejemplo, alfa (α), delta (δ), épsilon (ε), gamma (γ) y mu (μ), en función de la secuencia de aminoácidos del dominio constante, que da lugar a clases de anticuerpos IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, respectivamente, que incluyen subclases de IgG, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Las secuencias de aminoácidos de cadena pesada son bien conocidas en la técnica. En algunos aspectos, la cadena pesada es una cadena pesada humana.

Como se usa en la presente, el término "cadena ligera" cuando se usa en referencia a un anticuerpo puede hacer referencia a cualquier tipo distinto, por ejemplo, kappa (κ) o lambda (λ) en función de la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes. Las secuencias de aminoácidos de cadena ligera son bien conocidas en la

técnica. En algunos aspectos, la cadena ligera es una cadena ligera humana.

Una "región Fc" (región cristalizable de fragmentos) o "dominio Fc" o "Fc" se refiere a la región C-terminal de la cadena pesada de un anticuerpo que media la unión de la inmunoglobulina a tejidos o factores del hospedador, que incluye la unión a receptores Fc ubicados en varias células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) o al primer componente (C1q) del sistema de complemento clásico.

Una "región Fc de secuencia nativa" o "Fc de secuencia nativa" comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región Fc que se encuentra en la naturaleza. Las regiones Fc humanas de secuencia nativa incluyen una región Fc de IgG1 humana de secuencia nativa; región Fc de IgG2 humana de secuencia nativa; región Fc de IgG3 humana de secuencia nativa; y región Fc de IgG4 humana de secuencia nativa, así como variantes de origen natural de las mismas. La secuencia nativa Fc incluye los diversos alotipos de Fc (ver, por ejemplo, Jefferis *et al.*, (2009) mAbs 1:1; Vidarsson G. *et al*. Front Immunol. 5:520 (publicado en línea el 20 de octubre de 2014)).

Un "receptor Fc" o "FcR" es un receptor que se une a la región Fc de una inmunoglobulina. Los FcR que se unen a un anticuerpo IgG comprenden receptores de la familia FcγR, que

incluyen variantes alélicas y formas de corte y empalme alternativo de estos receptores. La familia FcγR consta de tres receptores activadores (FcγRI, FcγRIII y FcγRIV en ratones; FcγRIA, FcγRIIA y FcγRIIIA en humanos) y un inhibidor (FcγRIIB). La IgG1 humana se une a la mayoría de los receptores Fc humanos y provoca las funciones efectoras Fc más fuertes. Se considera equivalente a la IgG2a murina con respecto a sus tipos de receptores Fc activadores a los que se une. Por el contrario, la IgG4 humana provoca las menores funciones efectoras de Fc. (Vidarsson G. *et al*. Front Immunol. 5:520 (publicado en línea el 20 de octubre de 2014)). Una "función efectora de Fc" se refiere a la interacción de una región Fc de anticuerpo con un receptor o ligando de Fc, o un evento bioquímico que resulta de esto.

La región constante se puede manipular, por ejemplo, mediante tecnología de ADN recombinante, para eliminar una o más funciones efectoras. Una "función efectora" se refiere a la interacción de una región Fc de anticuerpo con un receptor o ligando de Fc, o un evento bioquímico que resulta de esto. Las "funciones efectoras" de ejemplo incluyen unión a C1q, citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), unión al receptor Fc, funciones efectoras mediadas por FcγR tal como ADCC y fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCP), y regulación negativa de un receptor de superficie celular (por ejemplo, el receptor de células B;

BCR). Estas funciones efectoras generalmente requieren que la región Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo, un dominio variable de anticuerpo). Por consiguiente, el término "una región constante sin la función Fc" incluye regiones constantes con funciones efectoras reducidas o sin una o más mediadas por la región Fc. Además, la región constante se puede manipular, por ejemplo, mediante tecnología de ADN recombinante, para aumentar la especificidad del anticuerpo, para mejorar la actividad del anticuerpo, para aumentar la semivida del anticuerpo, para eliminar o reducir los efectos fuera de la diana, o cualquier combinación de los mismos. Como se usa en la presente, el término "semivida del anticuerpo" se refiere al tiempo requerido para que la mitad de la cantidad del anticuerpo depositado en un organismo vivo se metabolice o elimine mediante procesos biológicos normales.

Las funciones efectoras de un anticuerpo pueden reducirse o evitarse mediante diferentes enfoques. Las funciones efectoras de un anticuerpo pueden reducirse o evitarse mediante el uso de fragmentos de anticuerpo que carecen de la región Fc (por ejemplo, tal como un Fab, F(ab')2, Fv de cadena individual (scFv) o un sdAb que consiste en un dominio VH o VL monomérico). De manera alternativa, los llamados anticuerpos aglicosilados pueden generarse mediante la remoción de azúcares que están unidos a

residuos particulares en la región Fc para reducir las funciones efectoras de un anticuerpo mientras retienen otros atributos valiosos de la región Fc (por ejemplo, semivida prolongada y heterodimerización). Los anticuerpos aglicosilados se pueden generar, por ejemplo, eliminando o alterando el residuo al que se une el azúcar, removiendo los azúcares enzimáticamente, produciendo el anticuerpo en células cultivadas en presencia de un inhibidor de la glicosilación, o expresando el anticuerpo en células que no pueden glicosilar proteínas (por ejemplo, células hospedadoras bacterianas). Ver, por ejemplo., Publicación de los Estados Unidos Núm. 20120100140. Otro enfoque es emplear regiones Fc de una subclase de IgG que tienen una función efectora reducida. Por ejemplo, los anticuerpos IgG2 e IgG4 se caracterizan por tener niveles más bajos de funciones efectoras Fc que IgG1 e IgG3. Los residuos más proximales a la región bisagra en el dominio CH2 de la parte Fc son responsables de las funciones efectoras de los anticuerpos, ya que contiene un sitio de unión en gran medida superpuesto para los receptores C1q (complemento) e IgG-Fc (FcγR) en las células efectoras del sistema inmune innato. Vidarsson G. *et al*. Front Immunol. 5:520 (publicado en línea el 20 de octubre de 2014). Por consiguiente, los anticuerpos con funciones efectoras de Fc reducidas o sin se pueden preparar generando, por ejemplo, una región Fc quimérica que comprende un dominio

CH2 de un anticuerpo IgG del isotipo IgG4 y un dominio CH3 de un anticuerpo IgG del isotipo IgG1, o una región Fc quimérica que comprende la región bisagra de IgG2 y la región CH2 de IgG4 (ver, por ejemplo, Lau C. *et al*. J. Immunol. 191:4769-4777 (2013)), o una región Fc con mutaciones que dan como resultado funciones efectoras de Fc alteradas, por ejemplo, funciones Fc reducidas o nulas. Estas regiones Fc con mutaciones se conocen en la técnica. Ver, por ejemplo., Publicación de los Estados Unidos Núm. 20120100140 y solicitudes de los Estados Unidos y PCT citadas en la misma y An *et al*., mAbs 1:6, 572-579 (2009); las descripciones se incorporan mediante esta referencia en su totalidad.

En algunos aspectos, el anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo se modifica de modo que no se una a la región Fc. Ver, por ejemplo, Saunders K., Front. Immunol., 10:1296 (2019).

Una "bisagra", "dominio bisagra", "región bisagra" o "región bisagra de anticuerpo" se usan indistintamente y se refieren al dominio de una región constante de cadena pesada que une el dominio CH1 al dominio CH2 e incluye los fragmentos superior, medio e inferior de la bisagra (Roux *et al*., J. Immunol. 1998 161:4083). La bisagra proporciona niveles variables de flexibilidad entre las regiones de unión y efectoras de un anticuerpo y también proporciona sitios para el enlace disulfuro intermolecular entre las dos

regiones constantes de cadena pesada.

Como se usa en la presente, "isotipo" se refiere a la clase de anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE) que está codificado para genes de la región constante de cadena pesada.

Las frases "un anticuerpo que reconoce un antígeno" y "un anticuerpo específico para un antígeno" se usan indistintamente en la presente con el término "un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno".

Un "anticuerpo aislado", tal como se usa en la presente, pretende referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes antígenos. Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a un epítopo de una proteína puede tener reactividad cruzada con otras proteínas correspondientes de diferentes especies.

En algunos aspectos, el anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo quimérico. El término anticuerpos "quiméricos" o fragmentos de unión al antígeno de los mismos se refiere a anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos en donde la secuencia de aminoácidos se deriva de dos o más especies. Habitualmente, la región variable de las cadenas ligera y pesada corresponde a la región variable de anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos

derivados de una especie de mamíferos (por ejemplo, ratón, rata, conejo, etc.), con la especificidad, afinidad y capacidad deseadas, mientras que las regiones constantes son homólogas a las secuencias en anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos derivados de otro (generalmente humano) para evitar provocar una respuesta inmune en esa especie.

En algunos aspectos, el anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humanizado. El término anticuerpo "humanizado" o fragmento de unión a antígeno del mismo se refiere a formas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) o fragmentos de unión al antígeno que son cadenas de inmunoglobulina específicas, inmunoglobulinas quiméricas o fragmentos de las mismas que contienen secuencias mínimas no humanas (por ejemplo, murinas). Habitualmente, los anticuerpos humanizados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos son inmunoglobulinas humanas en las que los residuos de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) se reemplazan por residuos de las CDR de una especie no humana (por ejemplo, ratón, rata, conejo, hámster) que tienen la especificidad, afinidad y capacidad deseadas ("CDR injertada") (Jones *et al.*, Nature 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature 332:323-327 (1988); Verhoeyen *et al.*, Science 239:1534-1536 (1988)). En algunos aspectos, un

anticuerpo humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender al menos una porción de una región o dominio constante de inmunoglobulina (Fc), habitualmente la de una inmunoglobulina humana. Los ejemplos de métodos usados para generar anticuerpos humanizados se describen en las patentes de los Estados Unidos 5,225,539; Roguska *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91(3):969-973 (1994), y Roguska *et al.*, Protein Eng. 9(10):895-904 (1996). En algunos aspectos, un "anticuerpo humanizado" es un anticuerpo resurgido.

En algunos aspectos, el anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humano. El término anticuerpo "humano" (HuMAb) o fragmento de unión a antígeno del mismo significa un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que tiene una secuencia de aminoácidos derivada de un locus génico de inmunoglobulina humana, donde este anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se produce usando cualquier técnica conocida en la técnica. Esta definición de un anticuerpo humano o fragmento de unión a antígeno del mismo incluye anticuerpos intactos o de longitud completa y fragmentos de los mismos.

Como se usa en la presente, un "epítopo" es un término en la técnica y se refiere a una región localizada de un antígeno a la que se puede unir específicamente un

anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. Un epítopo puede ser, por ejemplo, aminoácidos contiguos de un polipéptido (epítopo lineal o contiguo) o un epítopo puede, por ejemplo, unirse conjuntamente a partir de dos o más regiones no contiguas de un polipéptido o polipéptidos (epítopo conformacional, no lineal, discontinuo o no contiguo). El término "mapeo de epítopos" se refiere al proceso de identificación de los determinantes moleculares para el reconocimiento anticuerpo-antígeno.

Como se usa en la presente, el término "fragmento funcional de la misma" se refiere a un fragmento o porción de una proteína, por ejemplo, una proteína inmunomoduladora, que todavía es capaz de una o más funciones asociadas con la proteína completa (por ejemplo, estimular, modular, regular o modificar una respuesta inmune).

Como se usa en la presente, el término "inhibidor" se refiere a cualquier agente que reduce el nivel y/o la actividad de una proteína. Los ejemplos no limitantes de inhibidores incluyen anticuerpos de bloqueo, proteínas inhibidoras, ARNdh (por ejemplo, ARNpi o ARNhi) y vectores, por ejemplo, AAV, que comprenden polinucleótidos que codifican anticuerpos de bloqueo, proteínas inhibidoras o ARNdh (por ejemplo, ARNpi o ARNhi). El término "reducir", tal como se usa en la presente, se usa indistintamente con "silenciar", "regular a la baja", "suprimir" y otros términos

similares, e incluye cualquier nivel de reducción.

Como se usa en la presente, un "anticuerpo de bloqueo" es un anticuerpo que no tiene una reacción cuando se combina con un antígeno, pero evita que otros anticuerpos se combinen con ese antígeno.

Un anticuerpo que es "bloqueante" o que "bloquea" o que es "inhibidor" de que "inhibe" es un anticuerpo que reduce o inhibe (parcial o completamente) la unión de su proteína diana a uno o más ligandos cuando el anticuerpo se une a la proteína diana, y/o que reduce o inhibe (parcial o completamente) una o más actividades o funciones de la proteína diana cuando el anticuerpo se une a la proteína diana.

Como se usa en la presente, el término "péptido señal" se refiere a una secuencia de polipéptidos o combinación de secuencias que son suficientes para mediar la translocación de un polipéptido a la superficie celular. Sin limitarse a ninguna teoría en particular, la translocación de un polipéptido a la superficie celular puede estar mediada por la vía secretora, incluida la translocación de un polipéptido del citosol al retículo endoplásmico, y el posterior transporte del polipéptido a través del Golgi, y a la membrana celular, donde la proteína puede permanecer incrustada en la membrana celular, o ser secretada desde la célula. Como se usa en la presente, "péptidos señal" incluyen

secuencias señal de origen natural y sintéticas, "parches" de señal y similares. Los ejemplos de péptidos señal incluyen, pero no se limitan a, el péptido señal endógeno para HGH y variantes de la misma; el péptido señal endógeno para interferones y variantes de los mismos, que incluye el péptido señal de interferones de tipo I, II y III y variantes de los mismos; y los péptidos señal endógenos para citocinas conocidas y variantes de las mismas, tal como el péptido señal de eritropoyetina (EPO), insulina, TGF-β1, TNF, IL1-α e IL1-β, y variantes de los mismos. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal de IL-2. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal de IL-10. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal modificado.

La frase "poner en contacto una célula" (por ejemplo, poner en contacto una célula con una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica de la descripción), tal como se usa en la presente, incluye poner en contacto una célula directa o indirectamente. En algunos aspectos, poner en contacto una célula con una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica de la descripción incluye poner en contacto una célula *in vitro* o poner en contacto una célula *in vivo* con la construcción, el vector rAAV o la composición farmacéutica. Por lo tanto, por ejemplo, la construcción, el vector rAAV o la composición farmacéutica se

pueden poner en contacto físico con la célula por el individuo que realiza el método, o alternativamente, la construcción, el vector rAAV o la composición farmacéutica se pueden poner en una situación que permitirá o hará que posteriormente entre en contacto con la célula.

En algunos aspectos, el contacto con una célula *in vitro* se puede hacer, por ejemplo, mediante la incubación de la célula con la construcción o el vector de AAV.

En algunos aspectos, el contacto con una célula *in vivo* se puede hacer, por ejemplo, inyectando una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica de la descripción en o cerca del tejido donde se encuentra la célula (por ejemplo, la región oftálmica), o inyectando la construcción, el vector rAAV o la composición farmacéutica en otra área, por ejemplo, el torrente sanguíneo o el espacio subcutáneo, de modo que el agente alcance posteriormente el tejido donde se encuentra la célula a contactar. Por ejemplo, el vector de AAV se puede encapsular y/o acoplar a un ligando que dirige el vector de AAV a un sitio de interés. También son posibles combinaciones de métodos de contacto *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, una célula puede ponerse *en contacto in vitro* con una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica y posteriormente trasplantarse en un sujeto.

En algunos aspectos, poner en contacto una célula con una construcción, un vector rAAV o una composición

farmacéutica de la presente descripción incluye "introducir" o "administrar" (directa o indirectamente) la construcción, el vector rAAV o una composición farmacéutica en la célula facilitando o efectuando la captación o absorción en la célula. En algunos aspectos, la introducción en una célula incluye un método conocido en la técnica tal como electroporación y lipofección.

Como se usa en la presente, el término "*in vitro*" se refiere a eventos que ocurren en un entorno artificial, por ejemplo, en un tubo de ensayo o recipiente de reacción, en cultivo celular, en una placa de Petri, etc., en lugar de dentro de un organismo (por ejemplo, animal, planta o microbio).

Como se usa en la presente, el término "*in vivo*" se refiere a eventos que ocurren dentro de un organismo (por ejemplo, animal, planta o microbio o célula o tejido de los mismos).

Como se usa en la presente, el término "transfección" se refiere a métodos para introducir ácidos nucleicos exógenos en una célula por métodos no virales. Los métodos de transfección incluyen, pero no se limitan a, métodos químicos, tratamientos físicos y lípidos o mezclas catiónicas. Como se usa en la presente, el término "transducción" se refiere a métodos para introducir ácidos nucleicos exógenos en una célula por métodos virales (es

decir, por vector viral). La lista de agentes que se pueden transfectar o transducir en una célula es grande e incluye, por ejemplo, ARNpi, ARNhi, secuencias sentido y/o antisentido, ADN que codifica para una o más proteínas (por ejemplo, anticuerpos terapéuticos) y se organiza en un plásmido de expresión, por ejemplo, un vector.

Como se usa en la presente, "fuera de la diana" se refiere a cualquier efecto no deseado en una o más dianas, genes, transcritos de ARN, proteínas, mecanismos de señalización.

Como se usa en la presente, el término "sujeto" se refiere a cualquier organismo al que se le puede administrar una composición descrita en la presente, por ejemplo, un vector rAAV de la presente descripción, por ejemplo, con fines experimentales, de diagnóstico, profilácticos y/o terapéuticos. Los sujetos habituales incluyen cualquier animal (por ejemplo, mamíferos tal como ratones, ratas, conejos, primates no humanos y humanos). Un sujeto puede buscar o necesitar tratamiento, requerir tratamiento, recibir tratamiento, recibir tratamiento en el futuro o ser un ser humano o animal que está bajo el cuidado de un profesional capacitado para una enfermedad, trastorno, síndrome o condición en particular.

Como se usa en la presente, el término "administración" se refiere a la administración o

administración de un agente terapéutico (por ejemplo, una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica descrita en la presente) a un sujeto o sistema. La administración a un sujeto animal (por ejemplo, a un ser humano) puede ser por cualquier vía apropiada (por ejemplo, inyección periocular).

Como se usa en la presente, los términos "readministración", "administración repetida" y "redosificación" se refieren a una administración de una o más dosis adicionales de un agente terapéutico, por ejemplo, una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica de la descripción, después de una primera administración.

Tal como se usa en la presente, los términos "cantidad efectiva", "cantidad terapéuticamente efectiva" y una "cantidad suficiente" de, por ejemplo, una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica descrita en la presente se refieren a una cantidad suficiente para, cuando se administra al sujeto, incluyendo un humano, efectuar resultados beneficiosos o deseados, incluyendo resultados clínicos, y, como tal, una "cantidad efectiva" o sinónimo de la misma depende del contexto en el que se esté aplicando. En algunos aspectos, una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente (por ejemplo, una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica descrita en la presente) es una

cantidad que da como resultado un resultado beneficioso o deseado en un sujeto en comparación con un control.

La cantidad de un agente dado (por ejemplo, una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica descrita en la presente) corresponderá a esta cantidad variará dependiendo de diversos factores, tal como el agente dado, la formulación farmacéutica, la vía de administración, el tipo de enfermedad o trastorno, la identidad del sujeto (por ejemplo, edad, sexo y/o peso) o hospedador que se trata, y similares.

El término "cantidad profilácticamente efectiva", como se usa en la presente, incluye la cantidad de un agente, (por ejemplo, una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica descrita en la presente) que, cuando se administra a un sujeto que tiene o está predispuesto a tener una enfermedad, trastorno, síndrome o condición (por ejemplo, una enfermedad, trastorno, síndrome o condición oftálmica) es suficiente para prevenir, reducir los síntomas o mejorar la enfermedad, trastorno, síndrome o condición o uno o más síntomas de la enfermedad, trastorno, síndrome o condición. Mejorar la enfermedad, trastorno, síndrome o condición incluye ralentizar el curso de la enfermedad, trastorno, síndrome o condición, o reducir la gravedad de la enfermedad, trastorno, síndrome o condición de desarrollo posterior. La "cantidad profilácticamente efectiva" puede

variar dependiendo de las características del agente, por ejemplo, una construcción, un vector rAAV o una composición farmacéutica de la descripción, cómo se administra el agente, el grado de riesgo de enfermedad y la historia, edad, peso, antecedentes familiares, composición genética, los tipos de tratamientos anteriores o concomitantes, si los hay, y otras características individuales del paciente a tratar.

Como se usa en la presente, los términos "tratar", "tratado" y "que trata" significan tanto el tratamiento terapéutico como las medidas profilácticas o preventivas en donde el objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) una condición, enfermedad, trastorno, síndrome o condición fisiológica no deseada, u obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. En algunos aspectos, el tratamiento reduce o disminuye los síntomas asociados con la enfermedad, trastorno, síndrome o condición. En algunos aspectos, el tratamiento da como resultado un resultado clínico beneficioso o deseado. Por ejemplo, el tratamiento de una enfermedad, trastorno, síndrome o condición oftálmica puede reducir o disminuir los síntomas asociados con la enfermedad, trastorno, síndrome o condición oftálmica, reduce o disminuye la gravedad de al menos un indicador de la enfermedad, trastorno, síndrome o condición oftálmica.

Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de los síntomas;

disminución de la extensión de una enfermedad, trastorno, síndrome o condición; estado estabilizado (es decir, sin empeoramiento) de la enfermedad, trastorno, síndrome o condición; retraso en el inicio o ralentización de la progresión de la enfermedad, trastorno, síndrome o condición; mejora de la enfermedad, trastorno, síndrome o condición o remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable; una mejora de al menos un parámetro físico medible, no necesariamente discernible por el paciente; o mejora o mejoría de la enfermedad, trastorno, síndrome o condición . En algunos aspectos, el tratamiento incluye provocar una respuesta clínicamente significativa sin niveles excesivos de efectos secundarios. En algunos aspectos, el tratamiento incluye prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no recibe tratamiento.

Como se usa en la presente, el término "mejora" o "que mejora" se refiere a una disminución de la gravedad de al menos un indicador de una enfermedad, trastorno, síndrome o condición.

Como se usa en la presente, el término "prevenir" o "prevención" se refiere a retrasar o prevenir el inicio, desarrollo o progresión de una enfermedad, trastorno, síndrome o condición durante un período de tiempo, que incluye semanas, meses o años.

El término "composición farmacéutica", tal como se

usa en la presente, representa una composición que comprende un compuesto o molécula descrito en la presente, por ejemplo, un vector rAAV descrito en la presente, formulado con un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos aspectos, la composición farmacéutica puede fabricarse o venderse con la aprobación de una agencia reguladora gubernamental como parte de un régimen terapéutico para el tratamiento de una enfermedad, trastorno, síndrome o condición en un mamífero.

Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en la presente, se refiere a cualquier ingrediente distinto de los compuestos descritos en la presente (por ejemplo, un vehículo capaz de suspender o disolver el compuesto activo) y que tiene las propiedades de ser sustancialmente no tóxico y no inflamatorio en un paciente.

La expresión "agente terapéutico" o "molécula terapéutica" incluye un compuesto o molécula que, cuando está presente en una cantidad efectiva, produce un efecto terapéutico, farmacológico y/o fisiológico deseado en un sujeto en necesidad del mismo. Incluye cualquier compuesto, por ejemplo, un fármaco de molécula pequeña, o un biológico (por ejemplo, un fármaco polipeptídico o un fármaco de ácido nucleico) que cuando se administra a un sujeto tiene un efecto medible o transmisible en el sujeto, por ejemplo, alivia o disminuye un síntoma de una enfermedad, trastorno, síndrome o condición. En algunos aspectos, la molécula

terapéutica es un vector rAAV que comprende un casete de expresión que codifica para un anticuerpo terapéutico o fragmento funcional del mismo.

Como se usa en la presente, el término "patología" se refiere a cualquier desviación del estado sano. Como se usa en la presente, el término "patología" debe entenderse que abarca una "enfermedad", un "trastorno", un "síndrome", una "condición" o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en la presente, el término "ocular" debe entenderse como el significado del ojo. Así, por ejemplo, una “patología ocular” es una patología que afecta al ojo.

Como se usa en la presente, se debe entender que el término "periocular" significa que rodea el ojo (por ejemplo, dentro de la órbita). Por lo tanto, por ejemplo, una "patología periocular" es una patología que afecta el entorno del ojo (por ejemplo, dentro de la órbita).

Como se usa en la presente, el término "oftálmico" debe entenderse como el significado del ojo, relacionado con el ojo, o situado cerca del ojo, que incluye rodear el ojo (por ejemplo, dentro de la órbita). Por lo tanto, debe entenderse que el término oftálmico abarca tanto ocular como periocular. Por lo tanto, por ejemplo, una "patología oftálmica" es una patología que afecta al ojo y/o al entorno del ojo (por ejemplo, dentro de la órbita). Los ejemplos no limitantes de patologías oftálmicas incluyen, pero no se

limitan a, Degeneración Macular Relacionada con la Edad, Enfermedad de Behçet, Distrofia Cristalina de Bietti, Blefaritis, Blefaroespasmo, Coloboma, Condiciones Corneales, Retinopatía Diabética, Ojo Seco, Glaucoma, Hipertensión Intracraneal Idiopática, Edema Macular, Síndrome de Histoplasmosis Ocular, Ojo Rosado, Retinitis Pigmentosa, Retinobastoma, Retinopatía del Prematuro, Enfermedad de Stargardt, Enfermedad Ocular Tiroidea (TED), Síndrome de Usher y Uveítis (por ejemplo, uveítis no infecciosa).

Como se usa en la presente, los términos "intraocular" se refieren a una ubicación que está dentro o se produce a través del ojo.

Como se usa en la presente, el término "intraorbital" se refiere a una ubicación que está dentro o que se produce a través de la órbita. La "órbita" se refiere a la cavidad en el cráneo que contiene el ojo, los músculos, las glándulas, los vasos sanguíneos, los nervios, etc. relacionados con el ojo.

Como se usa en la presente, el término "periorbital" se refiere a una ubicación que se encuentra alrededor o rodea la órbita (por ejemplo, tejidos que rodean o recubren la órbita del ojo).

Como se usa en la presente, el término "retroorbital" se refiere a una ubicación situada o que se produce detrás de la órbita.

Como se usa en la presente, el término "retrobulbar" se refiere a una ubicación situada o que se produce en el área o espacio detrás del ojo dentro del cono muscular extraocular lateral.

Como se usa en la presente, el término "post-septal" se refiere a una ubicación situada o que se produce en el área entre el tabique orbital inferior y el borde orbital inferior.

Como se usa en la presente, el término "respuesta inmune" se refiere a una respuesta biológica dentro de un organismo contra un agente extraño o célula anormal, en donde la respuesta protege al organismo contra estos agentes/células y enfermedades provocadas por ellos. Una respuesta inmunitaria está mediada por la acción de una célula del sistema inmunitario (por ejemplo, un linfocito T (célula T), linfocito B (célula B), célula asesina natural (NK, por sus siglas en inglés), macrófago, eosinófilo, mastocito, célula dendrítica o neutrófilo) y macromoléculas solubles producidas por cualquiera de estas células o el hígado (incluidos anticuerpos, citocinas y complemento) que da como resultado la selección selectiva, la unión, el daño, la destrucción y/o la eliminación del cuerpo del organismo de patógenos invasores, células o tejidos infectados con patógenos, células cancerosas u otras células anormales, o, en casos de autoinmunidad o inflamación patológica, células o

tejidos humanos normales. En algunos aspectos, una reacción inmunitaria incluye, por ejemplo, la activación o inhibición de una célula T, por ejemplo, una célula T efectora o una célula Th, tal como una célula T CD4+ o CD8+, o la inhibición de una célula T reguladora (célula Treg).

Como se usa en la presente, el término "proteína inmunomoduladora", "inmunomodulador", "proteína inmunorreguladora" o "inmunorregulador" se refiere a un agente, por ejemplo, un componente de una vía de señalización que puede estar involucrado en la estimulación, modulación, regulación o modificación de una respuesta inmunitaria. "Modular", "regular" o "modificar" una respuesta inmunitaria se refiere a cualquier alteración en una célula del sistema inmunitario o en la actividad de esta célula (por ejemplo, una célula T efectora). Esta modulación incluye la estimulación o supresión del sistema inmunitario, que puede manifestarse por un aumento o disminución en el número de varios tipos de células, un aumento o disminución en la actividad de estas células, o cualquier otro cambio, que puede ocurrir dentro del sistema inmunitario. Se han identificado inmunomoduladores tanto inhibidores como estimulantes, algunos de los cuales pueden tener una función mejorada en un microentorno tumoral. En algunos aspectos, el inmunomodulador se encuentra en la superficie de una célula T. Una "diana inmunomoduladora" o "diana inmunorreguladora"

es un inmunomodulador que se dirige para la unión por, y cuya actividad se altera por la unión de, una sustancia, agente, porción, compuesto o molécula. Las dianas inmunomoduladoras pueden incluir, por ejemplo, receptores en la superficie de una célula ("receptores inmunomoduladores") y ligandos de receptores ("ligandos inmunomoduladores"). En algunos aspectos, la proteína inmunomoduladora es una citocina. En algunos aspectos, la proteína inmunomoduladora es un ligando soluble de célula asesina natural (NK), linfocitos B, linfocitos T, neutrófilos o macrófagos.

Como se usa en la presente, el término "citocina" se refiere a uno o más factores que ejercen efectos sobre las células, por ejemplo, que influyen en el crecimiento o la proliferación.

Como se usa en la presente, el término "terapia génica" es la inserción de secuencias de ácido nucleico (por ejemplo, un polinucleótido que comprende un promotor unido operativamente a un ácido nucleico que codifica para una molécula terapéutica) en las células y/o tejidos de un individuo para tratar, reducir los síntomas de, o reducir la probabilidad de una patología o trastorno. La terapia génica también incluye la inserción de transgén que son de naturaleza inhibidora, es decir, que inhiben, disminuyen o reducen la expresión, actividad o función de un gen o proteína endógeno, tal como un gen o proteína indeseable o

aberrante (por ejemplo, patógeno). Estos transgenes pueden ser exógenos. Se entiende que una molécula o secuencia exógena es una molécula o secuencia que no se produce normalmente en la célula, tejido y/o individuo a tratar. Tanto las enfermedades adquiridas como las congénitas son susceptibles de terapia génica.

II. Administración Periocular

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a la administración periocular de un agente terapéutico (por ejemplo, un rAAV descrito en la presente).

En algunos aspectos, la administración periocular (por ejemplo, inyección) es una administración periorbital o una administración post-septal. En algunos aspectos, la administración periorbital es una inyección subtenoniana, inyección retrobulbar, inyección subconjuntival o inyección peribulbar. En algunos aspectos, la administración periocular es una administración retrobulbar (por ejemplo, inyección de una construcción de AAV en una ubicación que está situada u ocurre detrás del ojo). En algunos aspectos, el parto periorbital es un parto peribulbar. En algunos aspectos, la administración periocular es una administración post-septal (por ejemplo, inyección de una construcción de AAV en una ubicación que está situada o que se produce entre el tabique orbital inferior y el borde orbital inferior).

En algunos aspectos, la administración retrobulbar es

una inyección retrobulbar (ver, por ejemplo, la **Figura 1**). En algunos aspectos, la administración post-septal es una inyección post-septal (ver, por ejemplo, la **Figura 2**).

En algunos aspectos, la administración periocular comprende inyectar un volumen de 0.1 mL a 5 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular. En algunos aspectos, la administración periocular comprende inyectar un volumen de 0.1 mL a 1 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende inyectar un volumen de 0.1 mL a 1.0 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular. En algunos aspectos, la administración comprende inyectar un volumen de 0.1 mL a 0.5 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende inyectar un volumen de aproximadamente 0.1 mL, aproximadamente 0.2 mL, aproximadamente 0.3 mL, aproximadamente 0.4 mL, aproximadamente 0.6 mL, aproximadamente 0.7 mL, aproximadamente 0.8 mL o 0.9 mL, o aproximadamente 1.0 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular. En algunos aspectos, la administración comprende inyectar un

volumen de aproximadamente 0.1 mL a 0.25 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular. En algunos aspectos, la administración comprende inyectar un volumen de 0.4 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración periocular permite que una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV entre en contacto con tejido(s) orbital(es) o compartimento(s) extraocular(es), por ejemplo, tejido adiposo extraocular, músculo elevador extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal, película lagrimal o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el vector de AAV entra en contacto con tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es) seleccionados del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos

inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para administrar una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV a uno o más tejidos orbitales o uno o más compartimentos extraoculares, que comprende inyectar el vector de AAV periocularmente, en donde el tejido periocular se selecciona del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculo elevador extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lacrimal, saco lacrimal, película lagrimal o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es), se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores

extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, los métodos de la descripción proporcionan una eficiencia de transducción del vector de AAV de al menos 5% (por ejemplo, 5% a 95%, 10% a 95%, 15% a 95%, 20% a 95%, 25% a 95%, 30% a 95%, 40% a 95% o 50% a 95%)) de las células oculares o perioculares diana. En algunos aspectos, la eficiencia de transducción del vector de AAV es de al menos 5%, al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% de las células oculares o perioculares diana. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular diana es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de las mismas. En algunos aspectos, la célula diana es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, el vector de AAV transduce células seleccionadas del grupo que consiste en adipocitos, fibroblastos orbitales y músculos extraoculares.

En algunos aspectos, la administración comprende la inyección periocular a un músculo extraocular. En algunos aspectos, el músculo extraocular es un músculo elevador, un músculo recto (por ejemplo, un músculo recto lateral, medial, superior o inferior), un músculo oblicuo (por ejemplo, un

músculo oblicuo inferior o superior).

En algunos aspectos, la administración comprende la inyección periocular a una célula ocular o periocular. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de las mismas. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, después de la administración del vector de AAV al sujeto, la expresión del agente terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo) en el músculo ocular del sujeto es de al menos aproximadamente 18 µg/ml y/o la concentración sérica del agente terapéutico es inferior a aproximadamente 6 µg/mL. En algunos aspectos, la concentración en el tejido ocular es de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 180 µg/mL, de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 100 µg/mL, de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 60 µg/mL, o de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 30 µg/mL. En algunos aspectos, el agente terapéutico es menor que aproximadamente 6 µg/mL (por ejemplo, aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5.9 µg/mL) en suero después de la administración del vector de AAV.

En algunos aspectos, la inyección periocular permite

que un polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R, un anticuerpo anti-IL6, un anticuerpo anti-FcRn, un anticuerpo anti-TSHR, un anticuerpo anti-IL11, un anticuerpo anti-IL6-R o un anticuerpo anti-IL11R) se exprese en una célula. En algunos aspectos, la célula es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una cápside de un serotipo seleccionado del grupo que consiste en AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVRh8, AAVrh9, AAV9, AAVrh10, AAV10, AAV11, AAV12 y una versión modificada de los mismos. En algunos aspectos, el serotipo de la cápside es AAV8 o AAV9. En algunos aspectos, el serotipo de la cápside es AAV9.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una cápside, un genoma de vector y un casete de expresión.

En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una repetición terminal invertida (ITR).

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente

terapéutico útil para el tratamiento de una patología oftálmica.

En algunos aspectos, la patología oftálmica es una enfermedad ocular o periocular.

En algunos aspectos, la patología oftálmica se selecciona del grupo que consiste en Degeneración Macular Relacionada con la Edad, Enfermedad de Behçet, Distrofia Cristalina de Bietti, Blefaritis, Blefaroespasmo, Coloboma, Condiciones Corneales, Retinopatía Diabética, Ojo Seco, Glaucoma, Hipertensión Intracraneal Idiopática, Edema Macular, Síndrome de Histoplasmosis Ocular, Ojo Rosa o Rosado, Retinitis Pigmentosa, Retinobastoma, Retinopatía del Prematuro, Enfermedad de Stargardt, Enfermedad Ocular Tiroidea (TED), Síndrome de Usher, Uveítis o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, la patología oftálmica es la Enfermedad Ocular Tiroidea (TED).

En algunos aspectos, la administración periocular comprende inyectar una dosis individual.

En algunos aspectos, la administración periocular comprende inyectar múltiples dosis.

En algunos aspectos, cada dosis de la dosis múltiple se administra al sujeto en un sitio de inyección individual.

En algunos aspectos, cada dosis de la dosis múltiple se administra al sujeto a través de múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración (por ejemplo, una inyección peribulbar) es una dosis individual para el ojo (por ejemplo, una administración unilateral). En algunos aspectos, la dosis individual se administra en un sitio de inyección individual. En algunos aspectos, la dosis individual se administra en múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración (por ejemplo, una inyección peribulbar) es múltiples dosis en el ojo (por ejemplo, una administración unilateral). En algunos aspectos, la dosis de las múltiples dosis se administra en un sitio de inyección individual. En algunos aspectos, cada dosis de las múltiples dosis se administra en diferentes sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es bilateral, es decir, se administra a ambos ojos (por ejemplo, una inyección peribulbar a cada ojo).

En algunos aspectos, el sujeto es un ser humano.

En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 6E11 a aproximadamente 2E13 genomas de vector (vg) por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 1E12 a aproximadamente 2E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 3E12 a aproximadamente 1.8E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 5E12 a aproximadamente 1E13 vg por ojo. En

algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 6E12 a aproximadamente 9E12 vg por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 1E11, aproximadamente 2E11, aproximadamente 3E11, aproximadamente 4E11, aproximadamente 5E11, aproximadamente 6E11, aproximadamente 7E11, aproximadamente 8E11, aproximadamente 9E11, aproximadamente 1E12, aproximadamente 2E12, aproximadamente 3E12, aproximadamente 4E12, aproximadamente 5E12, aproximadamente 6E12, aproximadamente 7E12, aproximadamente 8E12, aproximadamente 9E12, aproximadamente 1E13, aproximadamente 1.1E13, aproximadamente 1.2E13, aproximadamente 1.3E13, aproximadamente 1.4E13 o aproximadamente 1.5E13 de cualquiera del genoma del vector descrito en la presente por ojo (es decir, vg/ojo).

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra de aproximadamente 6E12 a aproximadamente 9E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos en la presente por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 6E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos en la presente por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 9E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos en la presente por ojo.

En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IGF-1R, un anticuerpo anti-IL-6, un anticuerpo anti-IL-6R, un anticuerpo anti-IL-11, un anticuerpo anti-IL-11R, un anticuerpo anti-FcRn, un anticuerpo anti-TSHR o fragmentos de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo anti-IGF-1R. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es un anticuerpo teprotumumab. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende la secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende la secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 142. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende la secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 142.

En algunos aspectos, la inyección periorbital es una

inyección subtenoniana, inyección retrobulbar, inyección subconjuntival o inyección peribulbar.

En algunos aspectos, la inyección periorbital es una inyección peribulbar.

Administración Retrobulbar

Ciertos aspectos de la descripción están dirigidos a la administración retrobulbar de un agente terapéutico.

En algunos aspectos, la administración retrobulbar es una inyección retrobulbar (ver, por ejemplo, la Figura 1).

En algunos aspectos, la inyección retrobulbar comprende (i) hacer avanzar una aguja a lo largo de la pared inferotemporal de la órbita (por ejemplo, la aguja está aproximadamente paralela al piso de la órbita con una inclinación de 10 a 15 grados). Aproximadamente 1 cm después de penetrar el tabique orbital, posterior al ecuador a menudo se siente como un "estallido", la aguja se redirige 30 a 45 grados superonasal y se hace avanzar 2.5 a 3.5 cm hasta el espacio intraconal (por ejemplo, aao.org/education/basic-skills/orbital-block-technique).

En algunos aspectos, la inyección retrobulbar comprende (i) hacer avanzar una aguja a lo largo de la pared inferotemporal de la órbita (por ejemplo, la aguja está aproximadamente paralela al piso de la órbita y en ángulo hacia abajo), (ii) redirigir la aguja hacia arriba y nasalmente hacia el vértice de la órbita, y (iii) hacer

avanzar la aguja hasta que penetre en el cono muscular. En algunos aspectos, el avance de la aguja a lo largo de la pared inferotemporal de la órbita comprende pasar la aguja a través de la unión del tercio medio y externo del borde orbital inferior y por debajo del ojo.

En algunos aspectos, la inyección retrobulbar se realiza con una aguja recta o curva. En algunos aspectos, la inyección retrobulbar se hace avanzar a una profundidad de aproximadamente 30 mm a aproximadamente 35 mm, o a la región detrás del globo.

En algunos aspectos, la inyección retrobulbar administra un volumen de aproximadamente 5 mL a aproximadamente 10 mL.

En algunos aspectos, la inyección retrobulbar está dentro del cono muscular extraocular lateral.

Administración Subtenoniana

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a la administración subtenoniana de un agente terapéutico (por ejemplo, la administración de una construcción de AAV a una ubicación que se encuentra entre la cápsula y la esclerótica, también conocida como espacio episcleral).

En algunos aspectos, la administración subtenoniana es una inyección subtenoniana.

En algunos aspectos, se levanta una pequeña carpa de la conjuntiva y la cápsula de Tenon con un par de fórceps, romos

sin dientes a aproximadamente 5-10 mm del limbo inferio-nasal y puede ser tan inferior como el fórnix dependiendo de la anatomía del paciente; se hace una pequeña incisión en el tejido usando un par de tijeras oftálmicas, exponiendo la esclerótica debajo; la cánula de sub-Tenon de extremos romos se puede insertar a través del defecto recién creado, con la jeringa de la construcción de AAV unida, y se pasa posteriormente, siguiendo la curvatura del globo, hasta que se percibe que su punta pasa el ecuador, asegurándose de insertar la cánula en el espacio subtenoniano (justo exterior a la esclerótica desnuda) y no en el espacio subconjuntival; luego se inyecta la construcción de AAV. Ver, por ejemplo, Amin S, *et al*., Una nueva técnica para administrar anestesia subtenoniana en cirugía oftálmica. Br J Ophthalmol; 2001; 86:114–123.

Administración Subconjuntival

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a la administración subconjuntival de un agente terapéutico (por ejemplo, la administración de una construcción de AAV a una ubicación que se encuentra entre la conjuntiva y la esclerótica). Ver, por ejemplo, Sue Stevens, Community Eye Health. Mar de 2009; 22(69): 15.

En algunos aspectos, la administración subconjuntival es una inyección subconjuntival.

Administración Peribulbar

Ciertos aspectos de la descripción están dirigidos a

la administración peribulbar de un agente terapéutico (por ejemplo, la administración de una construcción de AAV a una ubicación que se encuentra en la órbita alrededor del ecuador del globo ocular). Ver, por ejemplo, Alhassan MB, Kyari F, Ejere HOD. Peribulbar versus retrobulbar anaesthesia for cataract surgery. Cochrane Database of Systematic Reviews 2015, Emisión 7. Art. Núm.: CD004083.

En algunos aspectos, la administración peribulbar es una inyección post-septal (ver, por ejemplo, la **Figura 2**). En algunos aspectos, la inyección peribulbar comprende hacer avanzar una aguja hasta que penetra en el tabique orbital.

En algunos aspectos, la inyección peribulbar usa una aguja de calibre 25 avanzada a aproximadamente 20 mm a aproximadamente 25 mm de profundidad, o cerca del ecuador del globo. En algunos aspectos, la aguja avanza más de 25 mm, más allá del ecuador del globo. En algunos aspectos, la inyección peribulbar administra un volumen de aproximadamente 5 mL a aproximadamente 10 mL.

Durante la inyección peribulbar, la aguja se introduce en el espacio extraconal para evitar el riesgo de lesiones en las estructuras principales del espacio intraconal. Las inyecciones peribulbares generalmente se realizan en el espacio inferior, con inyecciones superiores adicionales si es necesario.

La inyección peribulbar fue introducida por primera

vez por Bloomberg *et al*. en 1986 como una alternativa más segura y efectiva a la administración retrobulbar, la técnica se usa con frecuencia para la administración de lidocaína o benzodiazepinas para proporcionar acinesia ocular y anestesia antes de la cirugía ocular, especialmente la cirugía de cataratas (Bloomberg, L.B., J Cataract Refract Surg 12(6): 677-679 (1986), Alhassan, M.B., *et al*., Cochrane Database Syst Rev 2015(7):CD004083 (2015), Pucchio, A., *et al*., Int Ophthalmol 43(5): 1761-1769 (2023)). Para una penetración extraocular más profunda del fármaco, se ha usado la inyección peribulbar para tratar condiciones oculares tal como la uveítis, el edema macular cistoide y la degeneración macular relacionada con la edad (Chew, E.Y., *et al*., Retina 31(2): 284-289 (2011), Sodhi, G., *et al*., Ophthalmology Management 22(Agosto de 2018): 30-38 (2018)).

La inyección peribulbar de corticosteroides en pacientes con TED se ha explorado en estudios y se observaron mejoras en la proptosis, inflamación, diplopía y retracción del párpado sin los efectos secundarios sistémicos que acompañan a los corticosteroides orales, tal como aumento de peso corporal, hiperglucemia e hipertensión (Bartalena, L., *et al*., Baillieres Clin Endocrinol Metab 11(3): 521-536 (1997), Ebner, R., *et al*., Br J Ophthalmol 88(11): 1380-1386 (2004), Bordaberry, M., *et al*., Acta Ophthalmol 87(1): 58-64 (2009), Alkawas, A.A., *et al*., Clin Exp Ophthalmol 38(7):

692-697 (2010), Wang, Y., *et al*., Exp Ther Med 20(3): 2031-2038 (2020)).

Los eventos relacionados con el procedimiento peribulbar son raros. Esto se debe principalmente a la colocación de la aguja en el compartimento extraconal en lugar de más profundamente en el espacio intraconal donde se encuentran estructuras ópticas adicionales (es decir, inyección retrobulbar). Las principales complicaciones de los bloqueos peribulbares realizados en pacientes sometidos a cirugía oftálmica se han reportado en 0.006% (Kazancioglu, L., *et al*., Turk J Anaesthesiol Reanim 45(4): 231-233 (2017)). El riesgo de hemorragia debido a la punción con aguja de los vasos sanguíneos es extremadamente bajo (0.74% en 16 224 procedimientos (Davis, D.B., *et al*., J Cataract Refract Surg 20(3): 327-337 (1994)) y no hay casos en 2684 procedimientos (Arnold, P. N., *et al*., J Cataract Refract Surg 18(2): 157-161 (1992)). En un estudio de caso de 16 224 procedimientos peribulbares, otros riesgos potenciales tal como la perforación del globo, la hemorragia expulsiva y la convulsión de gran mal fueron casos raros (0.006%, 0.013% y 0.006%, respectivamente); la depresión cardíaca o respiratoria no ocurrió en ningún paciente (Davis 1994).

En algunos aspectos, la administración de una construcción de AAV (por ejemplo, AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab) de la descripción a través de la vía

peribulbar concentra la exposición en el sitio de patogénesis de la enfermedad, el músculo extraocular y/o el tejido adiposo expandido. En algunos aspectos, la administración localizada limita la inhibición de IGF1R a las células de la enfermedad relevantes en la órbita y minimiza la exposición sistémica, mitigando las toxicidades fuera de diana observadas con la administración intravenosa de Tepezza. En algunos aspectos, la transducción local de tejido adiposo en el espacio periorbital puede actuar como una protección adicional en el sentido de que el tejido se puede remover si surgen problemas de sobreexpresión o tolerabilidad, ya que la cirugía de citorreducción de grasa es un procedimiento realizado comúnmente en pacientes con TED.

En algunos aspectos, la construcción de AAV (por ejemplo, AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab) se administrará como una inyección bilateral (ambos ojos). Si bien el TED bilateral puede presentarse de forma asimétrica, los pacientes unilaterales verdaderos son raros, y los pacientes diagnosticados inicialmente con enfermedad clínica unilateral generalmente progresan a enfermedad bilateral (Strianese, D., *et al.*, BMC Ophthalmol 13: 21 (2013)). Además, la evaluación clínica mediante tomografía computarizada ha demostrado que el 90% de los pacientes unilaterales tienen enfermedad bilateral subclínica (Strianese 2013). La intervención ocular individual para

pacientes con TED bilateral puede aumentar la molestia ocular y la diplopía debido a la normalización del ojo tratado mientras el otro ojo permanece abierto, similar a la miosis orbital unilateral, lo que hace que los pacientes necesiten una intervención quirúrgica aguda (Kang, M.S., *et al*., J clin Med 9(4) (2020)). En algunos aspectos, la construcción de AAV (por ejemplo, AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab) se administra como inyecciones peribulbares bilaterales a pacientes con TED para equilibrar la exposición orbital.

La seguridad de las terapias génicas intraoculares se puede evaluar unilateralmente para proteger la visión, ya que las múltiples barreras dentro del espacio ocular minimizan la exposición contralateral y sistémica; sin embargo, las respuestas inmunitarias de AAV prohíben el tratamiento posterior del otro ojo. Debido a que las inyecciones peribulbar se producen fuera de las barreras habituales para la administración intraocular de fármacos (es decir, la esclerótica, el tabique orbital y la barrera hematoocular), la exposición al suero es mayor para esta vía que la inyección intravítrea, pero sigue siendo menor que la administración oral (Weijtens, O., *et al*., Am J Ophthalmol 123(3): 358-363 (1997)). En algunos aspectos, la construcción de AAV (por ejemplo, AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab) se administra como una inyección

peribulbar unilateral a un paciente con TED (por ejemplo, un paciente con Ted con enfermedad unilateral).

Administración Post-Septal

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a la administración post-septal de un agente terapéutico (por ejemplo, la administración de una construcción de AAV a una ubicación que está situada o que se produce entre el tabique orbital inferior y el borde orbital inferior).

En algunos aspectos, la administración post-septal es una inyección post-septal (ver, por ejemplo, la Figura 2). En algunos aspectos, la inyección post-septal comprende hacer avanzar una aguja hasta que penetra en el tabique orbital.

En algunos aspectos, una inyección post-septal es un tipo de inyección periocular que está restringida a un área anterior al ecuador del globo. El tabique es una almohadilla de tejido que se encuentra tanto por encima como por debajo del ojo, y se realiza una inyección post-septal justo después del tabique. En algunos aspectos, la inyección post-septal penetra en el tabique entre aproximadamente 10 mm y aproximadamente 15 mm.

III. Patología oftálmica

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a la administración periocular a un sujeto que padece una patología oftálmica.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren al

tratamiento de un sujeto que padece una patología oftálmica que comprende la administración periocular de un agente terapéutico útil para el tratamiento de la patología oftálmica.

En algunos aspectos, la patología oftálmica se selecciona del grupo que consiste en Degeneración Macular Relacionada con la Edad, Enfermedad de Behçet, Distrofia Cristalina de Bietti, Blefaritis, Blefaroespasmo, Coloboma, Condiciones Corneales, Retinopatía Diabética, Ojo Seco, Glaucoma, Hipertensión Intracraneal Idiopática, Edema Macular, Síndrome de Histoplasmosis Ocular, Ojo Rosa o Rosado (Conjuntivitis), Retinitis Pigmentosa, Retinobastoma, Retinopatía del Prematuro, Enfermedad de Stargardt, SDíndrome de Usher, Enfermedad Ocular Tiroidea (TED) uveítis o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, la patología oftálmica es una enfermedad ocular tiroidea (abreviada TED) también denominada enfermedad ocular de Graves.

La enfermedad ocular tiroidea es un trastorno autoinmunitario que afecta el músculo y la grasa detrás de los ojos. TED a veces se denomina enfermedad ocular de Graves, orbitopatía de Graves, enfermedad ocular de Graves, orbitopatía asociada a la tiroides (TAO) y Oftalmopatía tiroidea.

La orbitopatía de Graves (GO) se refiere a los pasos

activos o crónicos de una condición autoinmunitaria asociada a la tiroides inflamatoria orbital. GO "activo" o GO "dinámico" puede durar aproximadamente 6 meses y hasta 24 meses y puede ir seguido de GO "inactivo" o "crónico".

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV, en donde la administración es una inyección periocular como se describe en la presente.

IV. Anticuerpos Terapéuticos

La presente descripción proporciona polinucleótidos (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos), vectores y partículas de rAAV para la administración y expresión de agentes terapéuticos a una célula o sujeto. En algunos aspectos, el agente terapéutico es una proteína terapéutica. En algunos aspectos, el agente terapéutico es un anticuerpo terapéutico.

En algunos aspectos, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo biespecífico, un nanocuerpo y un anticuerpo multiespecífico.

En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

En algunos aspectos, la proteína terapéutica es un

fragmento de anticuerpo seleccionado de un Fab, un Fab', un F(ab')2, un fragmento Fv, un anticuerpo lineal o un anticuerpo de cadena individual (por ejemplo, un nanocuerpo).

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo descrito en la presente comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para una cadena pesada (HC, por sus siglas en inglés) y/o una cadena ligera (LC, por sus siglas en inglés). En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo descrito en la presente comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para una cadena pesada variable (VH) y/o una cadena ligera variable (VL).

En algunos aspectos, el anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo quimérico.

En algunos aspectos, el anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humanizado.

En algunos aspectos, el anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humano. En algunos aspectos, un anticuerpo humano es un anticuerpo completamente humano que comprende una secuencia de aminoácidos que se deriva de un locus génico de inmunoglobulina humana y no contiene una secuencia de aminoácidos de un locus génico de inmunoglobulina no humana. En algunos aspectos, un anticuerpo

humano es un anticuerpo parcialmente humano que comprende las secuencias de aminoácidos que se derivan de un locus génico de inmunoglobulina humana y secuencias de aminoácidos que se derivan de un locus génico de inmunoglobulina no humana. En algunos aspectos, un anticuerpo humano es un anticuerpo completamente humano, parcialmente humano o humanizado. En algunos aspectos, un anticuerpo humano es un anticuerpo humano quimérico que es el anticuerpo tiene aproximadamente una cantidad similar de secuencias de aminoácidos que se derivan de un locus génico de inmunoglobulina humana y secuencias de aminoácidos que se derivan de un locus génico de inmunoglobulina no humana.

En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico se selecciona del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-6R, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α, anticuerpo anti-CD28, anti-IL-11, anti-IL-11R, anti-FcRn, Receptor de Hormona Estimulante anti-Tiroides (anti-TSHR) o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico se selecciona del grupo que consiste en anticuerpo anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α, anti-CD28 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos. En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico se selecciona del grupo que consiste en tocilizumab, teprotumumab, bevacizumab, ranibizumab, faricimab, infliximab, daclizumab,

secukinumab o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es teprotumumab, VRDN-01100, VRDN-02700, ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51 o L52H52, o fragmentos, variantes, o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es VRDN-01100, VRDN-02700 o teprotumumab, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGFR comprende SEQ ID NO: 78 (correspondiente a VRDN-01100). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGFR comprende SEQ ID NO: 81 (correspondiente a VRDN-002700).

En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo anti-IL-6 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6 se selecciona del grupo que consiste en Tocilizumab, Siltuximab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab, Levilimab, TOUR006, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6R se selecciona del grupo que consiste en Sarilumab, Satralizumab o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo anti-IL-11 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11 se selecciona del grupo que consiste en 9MW3811, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11R se selecciona del grupo que consiste en BI 765423, LASN01, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-FcRn se selecciona del grupo que consiste en Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab, IMVT-1402 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo anti-TSHR o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-TSHR es K1-70.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende un ácido nucleico que codifica para un péptido señal unido operativamente a un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal endógeno para HGH y variantes de la misma; un péptido señal endógeno para interferones y variantes de los mismos, que incluye el péptido señal de interferones de tipo I, II y III y variantes de los mismos; un péptido señal endógeno para citocinas conocidas y variantes de las mismas, tal como el péptido señal de eritropoyetina (EPO), insulina, TGF-β1, TNF, IL1-α e IL1-β, y variantes de los mismos. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal modificado. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal de IL-2 o un péptido señal de IL-10. En algunos aspectos, el péptido señal comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 45 o 51.

En algunos aspectos, una composición que comprende un vector de administración, por ejemplo, un vector viral, que comprende ácidos nucleicos que codifican para una inmunoglobulina descrita en la presente (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) es adecuada para la administración

por inyección periocular a un sujeto en necesidad del mismo.

En algunos aspectos, un casete de expresión de anticuerpo que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) se puede empaquetar en un vector viral (por ejemplo, un vector de AAV) descrito en la presente, en donde la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) está unida operativamente con el promotor. En algunos aspectos, el promotor puede impulsar la expresión del anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) en una célula hospedadora (por ejemplo, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, una célula de fibroblasto, un adipocito, una célula de miofibroblasto, un miocito, una célula muscular o cualquier combinación de los mismos). En algunos aspectos, el polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) se puede administrar mediante inyección periocular.

En algunos aspectos, el polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un

anticuerpo anti-IGF-1R) se puede administrar mediante inyección periocular a un tejido conectivo.

En algunos aspectos, el polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) se puede administrar mediante inyección periocular a un tejido adiposo.

En algunos aspectos, el polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) se puede administrar mediante inyección periocular a uno o más tejidos orbitales o uno o más compartimentos extraoculares. En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es) se selecciona(n) del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal, película lagrimal o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos,

el tejido periocular es un tejido retrobulbar.

En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es), se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) se puede administrar mediante inyección periocular a un músculo extraocular y/o adiposo en el espacio orbital. En algunos aspectos, el músculo extraocular es un músculo elevador, un músculo recto (por ejemplo, un músculo recto lateral, medial, superior o inferior), un músculo oblicuo (por ejemplo, un músculo oblicuo inferior o superior).

En algunos aspectos, el polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) se puede administrar mediante

inyección periocular a una célula ocular o periocular. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito, un linfocito o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, el polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) se expresa en una célula. En algunos aspectos, la célula es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, el polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vector, partícula de rAAV o composición que comprende el ácido nucleico que codifica para un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF-1R) se administra al sujeto mediante inyección periocular.

IV.A.1 Anticuerpos anti-IGF-1R

Ciertos aspectos de la descripción se dirigen a

polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones que comprenden el ácido nucleico que codifica anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales) y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen específicamente a un receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1R), tal como IGF-1R humano. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R codificado es un anticuerpo anti-receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-1 (anti-IGF-1R). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de teprotumumab, VRDN-01100, VRDN-02700, ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751,871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51 o L52H52, lonigutamab, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de VRDN-

01100 o VRDN-02700, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 (correspondiente a VRDN-01100). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGFR comprende SEQ ID NO: 81 (correspondiente a VRDN-002700).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de teprotumumab, o fragmentos, variantes o derivados del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de lonigutamab, o fragmentos, variantes o derivados del mismo.

En algunos aspectos, la descripción se refiere a polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción que comprenden un promotor unido operativamente a un ácido nucleico que codifica para una inmunoglobulina, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IGF-1R.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción usadas en los métodos descritos en la presente codifican un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos monoclonales o

fragmentos de unión al antígeno de los mismos) que tiene las secuencias de CDR y/o región variable de teprotumumab o anticuerpos que tienen al menos 80% de identidad (por ejemplo, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad) con sus secuencias de la región variable o CDR de teprotumumab. En algunos aspectos, la construcción de terapia génica que codifica para un anticuerpo anti-IGF-1R (por ejemplo, teprotumumab) es una construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) (por ejemplo, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera). En algunos aspectos, la construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) comprende además un elemento F2A o IRES.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones descritas en la presente comprenden un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que comprende una cadena pesada y una cadena ligera de teprotumumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones descritas en la presente comprenden secuencias

de ácido nucleico que se modifican en relación con las secuencias codificantes de teprotumumab de tipo silvestre (no modificadas).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R comprende una cadena pesada y una cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena pesada comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 40-42 (o una secuencia codificante de HC descrita en la **Tabla 11**). En algunos aspectos, la HC codificada comprende SEQ ID NO: 43 u 85 (o la secuencia de aminoácidos de HC en la Tabla 12). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena ligera comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 46-48 (o una secuencia codificante de LC descrita en la Tabla 13). En algunos aspectos, la LC codificada comprende SEQ ID NO: 49 u 90 (o la secuencia de aminoácidos de LC en la Tabla 14).

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena pesada comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 24-26 (o una secuencia

codificante de VH descrita en la Tabla 5). En algunos aspectos, la VH codificada comprende cualquiera de SEQ ID NOs: 27, 28 u 86 (o cualquiera de las secuencias de aminoácidos de VH en la Tabla 6). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena ligera comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 29-31 (o una secuencia codificante de VL descrita en la Tabla 7). En algunos aspectos, la VL codificada comprende cualquiera de SEQ ID NOs: 32, 33 o 91 (o cualquiera de las secuencias de aminoácidos de VL en la Tabla 8).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R comprende una cadena pesada y una cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena pesada comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 40-42 (o una secuencia codificante de HC descrita en la Tabla 11). En algunos aspectos, la HC codificada comprende SEQ ID NO: 43 (o la secuencia de aminoácidos de HC en la Tabla 12). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena ligera comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a

cualquiera de SEQ ID NOs: 46-48 (o una secuencia codificante de LC descrita en la Tabla 13). En algunos aspectos, la LC codificada comprende SEQ ID NO: 49 (o la secuencia de aminoácidos de LC en la Tabla 14).

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena pesada comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 24-26 (o una secuencia codificante de VH descrita en la Tabla 5). En algunos aspectos, la VH codificada comprende SEQ ID NO: 27 o SEQ ID NO: 28 (o cualquiera de las secuencias de aminoácidos de VH en la Tabla 6). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena ligera comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 29-31 (o una secuencia codificante de VL descrita en la Tabla 7). En algunos aspectos, la VL codificada comprende SEQ ID NO: 32 o SEQ ID NO: 33 (o cualquiera de las secuencias de aminoácidos de VL en la Tabla 8).

En algunos aspectos, la cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y una CDR3 de VH. En algunos aspectos, las CDR de VH 1-3

corresponden a las CDR de teprotumumab. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR1 de VH comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 9 o 12 (o una secuencia codificante de CDR1 de VH descrita en la Tabla 3); la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR2 de VH comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 10, 13 o 15 (o una secuencia codificante de CDR2 de VH descrita en la Tabla 3); y la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR3 de VH comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 11, 14 o 16 (o una secuencia codificante de CDR3 de VH descrita en la Tabla 3).

En algunos aspectos, la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VL 1-3 corresponden a las CDR de teprotumumab. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR1 de VL comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 17 (o una secuencia

codificante de CDR1 de VL descrita en la Tabla 4); la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR2 de VL comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 18, 20 o 22 (o una secuencia codificante de CDR2 de VL descrita en la Tabla 4); y la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR3 de VL comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 19, 21 o 23 (o una secuencia codificante de CDR3 de VL descrita en la Tabla 4).

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo de dominio individual (por ejemplo, un nanocuerpo) que comprende (i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y/o una CDR3 de VH o (ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una CDR1, una CDR2 de VL y/o una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VH y/o CDR de VL codificadas se seleccionan de las CDR correspondientes de teprotumumab.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica la secuencia de aminoácidos de teprotumumab, VRDN-01100, VRDN-02700, ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751,871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-

1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, L52H52, lonigutamab, o fragmentos, variantes o derivados de las mismas.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica la secuencia de aminoácidos de VRDN-01100 o VRDN-02700, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 (correspondiente a VRDN-01100). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGFR comprende SEQ ID NO: 81 (correspondiente a VRDN-002700).

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica la secuencia de aminoácidos de teprotumumab, o fragmentos, variantes o derivados del mismo.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR listadas en las Tablas 1 y 2 (es decir, cualquier conjunto de tres CDR de VH

listadas en la Tabla 1 y cualquier conjunto de tres CDR de VL listadas en la Tabla 2). En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende las secuencias de nucleótidos de las seis CDR listadas en las Tablas 3 y 4 (es decir, los ácidos nucleicos que codifican las tres CDR de VH listadas en la Tabla 3 y los ácidos nucleicos que codifican las tres CDR de VL listadas en la Tabla 4).

Tabla 1. Secuencias de Aminoácidos de CDR de Cadena Pesada Variable (CDR de VH) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

VH-CDR1	**VH-CDR2**	**VH-CDR3**
SYGMH (SEQ ID NO: 1)	IIWFDGSSTYYADSVRG (SEQ ID NO: 2)	ELGRRYFDL (SEQ ID NO: 3)
SYGMH (SEQ ID NO: 1)	IIWFDGSSKYYGDSVKG (SEQ ID NO: 7)	ELGRRYFDL (SEQ ID NO: 3)
GYTFTSYY (SEQ ID NO: 87)	IWPGDGST (SEQ ID NO: 88)	ASPMITPNYAMDY (SEQ ID NO: 89)

Tabla 2. Secuencias de Aminoácidos de CDR de Cadena Ligera Variable (CDR de VL) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

VL-CDR1	**VL-CDR2**	**VL-CDR3**
RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 4)	DASKRAT (SEQ ID NO: 5)	QQRSKWPPWT (SEQ ID NO: 6)

RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 4)	DASNRAT (SEQ ID NO: 8)	QQRSKWPPWT (SEQ ID NO: 6)
QDISKY (SEQ ID NO: 92)	YTS	QQGSTLPYT (SEQ ID NO: 93)

Tabla 3. Secuencias de Ácido Nucleico de CDR de Cadena Pesada Variable (CDR de VH) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

Descripción	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
anti-IGF-1R #1	tcctacgg gatgcat (SEQ ID NO: 9)	atcatttggttcgacggatcttcaacttatt acgccgatagtgttcgaggg (SEQ ID NO: 10)	gagctgggccgccggtat tttgacctt (SEQ ID NO: 11)
anti-IGF-1R #2	tcctatgg gatgcat (SEQ ID NO: 12)	atcatttggtttgatggatcttcaacttatt atgctgatagtgttagaggg (SEQ ID NO: 13)	gagctgggccgcagatat tttgacctt (SEQ ID NO: 14)
anti-IGF-1R #3	tcctatgg gatgcat (SEQ ID NO: 12)	atcatttggtttgatggatcttcaacttatt atgctgatagtgttaggggg (SEQ ID NO: 15)	gagctgggcagaaggtat tttgacctt (SEQ ID NO: 16)

Tabla 4. Secuencias de Ácido Nucleico de CDR de Cadena Ligera Variable (CDR de VL) de Anticuerpo Anti-IGF-1R

Descripción	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
anti-IGF-1R #1	agggcctcccagtctgtttca agttatctggct (SEQ ID NO: 17)	gacgcaagcaaacga gccacc (SEQ ID NO:18)	cagcagcggagtaagtggcca ccctggaca (SEQ ID NO: 19)
anti-IGF-1R #2	agggcctcccagtctgtttca agttatctggct (SEQ ID NO: 17)	gatgcaagcaaaagg gccaca (SEQ ID NO: 20)	cagcagcggagtaagtggcca ccctggaca (SEQ ID NO: 21)
anti-IGF-1R #3	agggcctcccagtctgtttca agttatctggct (SEQ ID NO: 17)	gatgcaagcaaaaga gccaca (SEQ ID NO: 22)	cagcagagaagtaagtggcca ccctggaca (SEQ ID NO: 23)

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende una secuencia de ácido nucleico, listada

en la Tabla 5. En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica una secuencia de cadena pesada variable (VH) de anticuerpo, listada en la Tabla 6 o fragmento de unión a antígeno de la misma.

Tabla 5. Secuencias de Ácido Nucleico de Cadena Pesada Variable (VH) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

	Secuencia de Ácido Nucleico de VH (SEQ ID NO)
VH #1 anti-IGF-1R VH	caggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtgcaacccggcagatc acagaggctgagttgcgcagcgtcgggattcacatttagctcctacggga tgcattgggtccgccaggcccctggcaagggtctagagtgggtggctatc atttggttcgacggatcttcaacttattacgccgatagtgttcgagggcg ttttacgataagccgggacaactccaaaaataccctctatctgcaaatga actctttgagagcagaagatacagccgtgtacttctgtgctagggagctg ggccgccggtattttgacctttggggcagaggaactctcgtcagcgtatc ctca (SEQ ID NO: 24)
VH #2 anti-IGF-1R VH	Caggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtgcaacctggcagatc acagaggctgagttGcgcagcaagtggattcacatttagctcctatggga tgcattgggtccgccaggcccctggcaagGgtctagagtgggtggctatc atttggtttgatggatcttcaacttattatgctgatagtgttagAgggcg ctttactataagcagggacaactccaaaaataccctctatctgcaaatga actctttgagagcagaagatacagctgtgtacttctgtgctagggagctg ggccgcagatattttgacctttgg ggcagaggaactcttgtctctgtatcctca (SEQ ID NO: 25)
VH #3 anti-IGF-1R VH	caggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtgcaacctggcagatc acagaggctgagtt gtgcagcaagtggattcacatttagctcctatgggatgcattgggtcaga caggcccctggcaag ggtctagagtgggtggctatcatttggtttgatggatcttcaacttatta tgctgatagtgttag ggggagatttactataagcagggacaactccaaaaataccctctatctgc aaatgaactctttga gagcagaagatacagctgtgtacttctgtgctagggagctgggcagaagg tattttgacctttgg ggcagaggaactcttgtctctgtatcctca (SEQ ID NO: 26)

Tabla 6. Secuencias de Aminoácidos de Cadena Pesada Variable (VH) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

Secuencia de Aminoácidos de VH (SEQ ID NO)
QVELVESGGGVVQPGRSQRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIWFDGSST YYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCARELGRRYFDLWGRGTLVSV SS (SEQ ID NO: 27)
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWMAIIWFDGSSK YYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYYCARELGRRYFDLWGRGTLVTV SS (SEQ ID NO: 28)
VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVRQAPGQGLEWMGWIWPGDGSTK YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYFCASPMITPNYAMDYWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 86)

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende una secuencia de ácido nucleico, listada en la **Tabla 7**. En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica una cadena ligera variable (VL) de anticuerpo que comprende una secuencia, listada en la **Tabla 8** o un fragmento de unión a antígeno de la misma.

Tabla 7. Secuencias de Ácido Nucleico de Cadena Ligera Variable (VL) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

	Secuencia de Ácido Nucleico de VL (SEQ ID NO)
VL #1 anti-IGF-1R VL	gagattgtcttaacacaatcacccgcaactctgagtctatcgcctggcgaa agagcgacgctcagctgtagggcctcccagtctgtttcaagttatctggct tggtaccagcaaaagccaggacaggccccgcgcttgctgatatatgacgca agcaaacgagccaccgggatccccgctcgtttctccggttctggcagcgga acagattttactcttaccatttcctcactcgagcctgaagacttcgcagtg tactattgccagcagcggagtaagtggccaccctggacatttgggcaaggc accaaagtagaga gcaag (SEQ ID NO: 29)
VL #2 anti-IGF-1R VL	gagattgtcttaacacaatcacccgcaactctgagtctaagtcctggagaa agagcaactctcagctgtagggcctcccagtctgtttcaagttatctggct tggtaccagcaaaagccaggacaggccccgcgcttgctgatatatgatgca agcaaaagggccacagggatccccgctagattcagcggttctggcagcgga acagattttactcttaccatttcctcacttgagcctgaagactttgcagtg tactattgccagcagcggagtaagtggccaccctggacatttgggcaaggc accaaagtagaga gcaag (SEQ ID NO: 30)

VL #3 anti-IGF-1R VL	Gagattgtcttaacacaatcacctgcaactctgagtctaagtcctggagaa agagcaactctcagctgtagggcctcccagtctgtttcaagttatctggct tggtaccagcaaaagccaggacaggccccaaggttgctgatatatgatgca agcaaaagagccacagggatccctgctaggttctctggttctggctctgga acagattttactcttaccatttcctcacttgagcctgaagactttgcagtg tactattgccagcagagaagtaagtggccaccctggacatttgggcaaggc accaaagtagagagcaag (SEQ ID NO: 31)

Tabla 8. Secuencias de Aminoácidos de Cadena Ligera Variable (VL) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

Secuencia de Aminoácidos de VL (SEQ ID NO)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSKWPPWTFG QGTKVESK (SEQ ID NO: 32)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSKWPPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 33)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGV PSRFSGRGSGTDYSLTISSLQPEDFATYFCQQGSTLPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 91)

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende un ácido nucleico seleccionado de la Tabla 5 (por ejemplo, un ácido nucleico que codifica para una VH de la Tabla 6) y un ácido nucleico de la Tabla 7 (por ejemplo, un ácido nucleico que codifica para una VL de la Tabla 8).

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende una secuencia de ácido nucleico, mostrada en la **Tabla 9.**

Tabla 9. Secuencias de Ácido Nucleico de la Región Constante de Cadena Ligera del Anticuerpo Anti-IGF-1R

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia de Ácido Nucleico de la Región Constante de Cadena Ligera**
Constante de LC #1 (SEQ ID NO: 34)	agaactgtggccgcgccttctgtcttcatctttccaccctccgatg aacagctgaaatcgggtacggcttcagtggtttgtctgctcaataa cttctacccgagggaggccaaggtgcagtggaaggtcgacaatgca ttgcagagcggaaacagtcaagagtctgtaacagaacaggattcca aagacagcacctattcactttccagtactctgaccttatctaaggc cgattacgagaaacacaaggtgtacgcttgcgaagttacacatcag gggctgagctcccctgtgaccaaaagctttaatcgcggcgagtgt
Constante de LC #2 (SEQ ID NO: 35)	agaactgtggccgcgccttctgtcttcatctttccaccctctgatg aacagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctgctcaataa cttctacccaagggaggccaaggtgcagtggaaggttgacaatgca ttgcagagcggaaacagtcaagagtctgtaacagaacaggattcca aagacagcacctattcactttccagtactctgaccttatctaaggc tgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaagttacacatcag gggctgagctcccctgtgaccaaaagctttaatagggggggagtgt
Constante de LC #3 (SEQ ID NO: 36)	agaactgtggctgcaccttctgtcttcatctttccaccctctgatg aacagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctgctcaataa cttctacccaagggaggccaaggtgcagtggaaggttgacaatgca ttgcagtctggaaacagtcaagagtctgtaacagaacaggattcca aagacagcacctattcactttccagtactctgaccttatctaaggc tgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaagttacacatcag gggctgagctcccctgtgaccaaaagctttaatagggggggagtgt

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende una secuencia de ácido nucleico, mostrada en la **Tabla 10.**

Tabla 10. Secuencias de Ácido Nucleico de la Región Constante de Cadena Pesada del Anticuerpo Anti-IGF-1R

Descripción (SEQ ID NO)	Secuencia de Ácido Nucleico de la Región Constante de Cadena Pesada
Constante de HC #1 (SEQ ID NO: 37)	gcaagtaccaaggggccaagcgtgttcccgctggccccctcttccaaatcgac atcaggtggcaccgcggctctgggatgcctcgttaaggattactttcctgaac cagtgactgtcagctggaatagtggggccttgacgtctggcgtgcacacattc cccgcagtccttcagtccagcggtctgtattcattatccagtgtggttaccgt gccttctagctccctgggaactcagacctacatctgtaacgtaaatcataaac caagcaacacaaaggtggacaagaaagtcgagcccaagtcttgcgataaaacc cacacttgtccgccttgcccagcccccgagctactcgggggcccttcagtttt tctgttcccacccaagcctaaagacacattgatgattagtaggacgcccgaag tgacctgtgtcgtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagttcaat tggtacgtggatggcgtcgaggtgcacaacgctaagactaaaccgcgcgaaga gcagtataatagcacataccgagtcgtgtcggttctgaccgtgcttcaccaag actggctcaacggaaaggagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgccc gcacctatcgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcagccacgtgagcccca ggtctacaccctgcctccatcccgggacgaattaacaaagaaccaggtgagtc tcacgtgcctggttaaaggttttttatcccagcgatatcgccgtggagtgggag tctaacggccaaccggaaaataactacaagaccacacctccagtcttggactc cgatggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggc agcaggggaatgtgttcagctgttccgttatgcatgaggcgctacacaaccat tatacccagaagtctctctcgctgtcacccggcaaa
Constante de HC #2 (SEQ ID NO: 38)	gcaagtaccaaggggccatctgtgttcccgctggccccctcttccaaaagtac atcaggtggcaccgcggctctgggatgcttggttaaggattactttcctgaac cagtgactgtcagctggaatagtggggccttgacttctggggtgcacacattc cccgcagtccttcagtccagcggtctgtattcattatccagtgtggttacagt gccttctagctccctgggaactcagacctacatctgtaatgtaaatcataaac caagcaacacaaaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgataaaacc cacacttgtccgccttgcccagcccctgagctacttgggggcccttcagtttt tctgttcccacccaagcctaaagacacattgatgattagtaggactcctgaag tgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagttcaat tggtatgtggatggagttgaggtgcacaatgctaagactaaaccgagggaaga gcagtataatagcacatacagagttgtgtcagttctgacagtgcttcaccaag actggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgccc gcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcagccaagggagcccca ggtctacaccctgcctccatccagagatgaattaacaaagaaccaggtgagtc tcacttgcctggttaaaggttttttatccctctgatattgctgtggagtgggag tctaatggccaaccagaaaataactacaagaccacacctccagtcttggactc tgatggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggc agcaggggaatgtgttcagctgttctgttatgcatgaggcgctacacaaccat tatacccagaagtctctcagtctgtcacctggcaaa

Constante de HC #3 (SEQ ID NO: 39)	gcaagtaccaaggggccatctgtgttcccactggccccctcttccaaaagtac atcaggtggcacagcagctctgggatgcttggttaaggattactttcctgaac cagtgactgtcagctggaatagtggggccttgacttctggggtgcacacattc cctgcagtccttcagtcctctggtctgtattcattatccagtgtggttacagt gccttctagctccctgggaactcagacctacatctgtaatgtaaatcataaac caagcaacacaaaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgataaaacc cacacttgtccaccttgcccagcccctgagctacttgggggcccttcagtttt tctgttcccacccaagcctaaagacacattgatgattagtaggactcctgaag tgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagttcaat tggtatgtggatggagttgaggtgcacaatgctaagactaaaccaagagaaga gcagtataatagcacatacagggttgtgtcagttctgacagtgcttcaccaag actggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgcct gcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcagccaagagagcccca ggtctacaccctgcctccatccagggatgaattaacaaagaaccaggtgagtc tcacttgcctggttaaaggtttttatccctctgatattgctgtggagtgggag tctaatggccaaccagaaaataactacaagaccacacctccagtcttggactc tgatggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggc agcaggggaatgtgttcagctgttctgttatgcatgaggcactacacaaccat tatacccagaagtctctcagtctgtcacctggcaaa

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende las secuencias de ácido nucleico, listadas en la Tabla 11. En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo que comprende la cadena pesada (HC) de un anticuerpo, listado en la Tabla 12 o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un péptido señal, listado en la Tabla 12.

Tabla 11. Secuencias de Ácido Nucleico de Cadena Pesada (HC) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia de Ácido Nucleico de HC**
Péptido señal IL-10 - HC #1 (SEQ ID NO: 40) Completo: 1398	atgcacagctccgccctgctctgctgtttggtgcttctgaccggcgt ccgggctcaggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtgcaac ccggcagatcacagaggctgagttgcgcagcgtcgggattcacattt agctcctacgggatgcattgggtccgccaggcccctggcaagggtct agagtgggtggctatcatttggttcgacggatcttcaacttattacg ccgatagtgttcgagggcgttttacgataagccgggacaactccaaa

Péptido señal IL-10: 1-54 (SEQ ID NO: 44) HC: 55-1398	aataccctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagatacagc cgtgtacttctgtgctagggagctgggccgccggtattttgaccttt ggggcagaggaactctcgtcagcgtatcctcagcaagtaccaagggg ccaagcgtgttcccgctggccccctcttccaaatcgacatcaggtgg caccgcggctctgggatgcctcgttaaggattactttcctgaaccag tgactgtcagctggaatagtggggccttgacgtctggcgtgcacaca ttccccgcagtccttcagtccagcggtctgtattcattatccagtgt ggttaccgtgccttctagctccctgggaactcagacctacatctgta acgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggacaagaaagtcgag cccaagtcttgcgataaaacccacacttgtccgccttgcccagcccc cgagctactcgggggcccttcagttttctgttcccacccaagccta aagacacattgatgattagtaggacgcccgaagtgacctgtgtcgtg gtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagttcaattggtacgt ggatggcgtcgaggtgcacaacgctaagactaaaccgcgcgaagagc agtataatagcacataccgagtcgtgtcggttctgaccgtgcttcac caagactggctcaacggaaaggagtataaatgcaaggtatctaataa ggccctgcccgcacctatcgaaaaaactatttcaaaggctaaagggc agccacgtgagccccaggtctacaccctgcctccatcccgggacgaa ttaacaaagaaccaggtgagtctcacgtgcctggttaaaggttttta tcccagcgatatcgccgtggagtgggagtctaacggccaaccggaaa ataactacaagaccacacctccagtcttggactccgatggaagcttc tttctttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggcagcaggg gaatgtgttcagctgttccgttatgcatgaggcgctacacaaccatt atacccagaagtctctctcgctgtcacccggcaaa
Péptido señal IL-10 - HC #2 (SEQ ID NO: 41) Completo: 1398 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398	atgcacagctccgccctgctctgctgtttggtgcttctgacaggagt cagggctcaggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtgcaac ctggcagatcacagaggctgagttgcgcagcaagtggattcacattt agctcctatgggatgcattgggtccgccaggcccctggcaagggtct agagtgggtggctatcatttggtttgatggatcttcaacttattatg ctgatagtgttagagggcgctttactataagcagggacaactccaaa aataccctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagatacagc tgtgtacttctgtgctagggagctgggccgcagatattttgaccttt ggggcagaggaactcttgtctctgtatcctcagcaagtaccaagggg ccatctgtgttcccgctggccccctcttccaaaagtacatcaggtgg caccgcggctctgggatgcttggttaaggattactttcctgaaccag tgactgtcagctggaatagtggggccttgacttctggggtgcacaca ttccccgcagtccttcagtccagcggtctgtattcattatccagtgt ggttacagtgccttctagctccctgggaactcagacctacatctgta atgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggacaagaaagttgag cccaagtcttgtgataaaacccacacttgtccgccttgcccagcccc tgagctacttgggggcccttcagttttctgttcccacccaagccta aagacacattgatgattagtaggactcctgaagtgacctgtgttgtg gtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagttcaattggtatgt ggatggagttgaggtgcacaatgctaagactaaaccgagggaagagc agtataatagcacatacagagttgtgtcagttctgacagtgcttcac caagactggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggtatctaataa ggccctgcccgcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaagggc agccaagggagccccaggtctacaccctgcctccatccagagatgaa ttaacaaagaaccaggtgagtctcacttgcctggttaaaggttttta tccctctgatattgctgtggagtgggagtctaatggccaaccagaaa

	ataactacaagaccacacctccagtcttggactctgatggaagcttc tttctttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggcagcaggg gaatgtgttcagctgttctgttatgcatgaggcgctacacaaccatt atacccagaagtctctcagtctgtcacctggcaaa
Péptido señal IL-10 - HC #3 (SEQ ID NO: 42) Completo: 1398 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398	atgcacagctctgccctgctctgctgtttggtgcttctgacaggagt cagggctcaggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtgcaac ctggcagatcacagaggctgagttgtgcagcaagtggattcacattt agctcctatgggatgcattgggtcagacaggcccctggcaagggtct agagtgggtggctatcatttggtttgatggatcttcaacttattatg ctgatagtgttaggggagatttactataagcagggacaactccaaa aataccctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagatacagc tgtgtacttctgtgctagggagctgggcagaaggtattttgaccttt ggggcagaggaactcttgtctctgtatcctcagcaagtaccaagggg ccatctgtgttcccactggccccctcttccaaaagtacatcaggtgg cacagcagctctgggatgcttggttaaggattactttcctgaaccag tgactgtcagctggaatagtggggccttgacttctggggtgcacaca ttccctgcagtccttcagtcctctggtctgtattcattatccagtgt ggttacagtgccttctagctccctgggaactcagacctacatctgta atgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggacaagaaagttgag cccaagtcttgtgataaaacccacacttgtccaccttgcccagcccc tgagctacttgggggcccttcagtttttctgttcccacccaagccta aagacacattgatgattagtaggactcctgaagtgacctgtgttgtg gtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagttcaattggtatgt ggatggagttgaggtgcacaatgctaagactaaaccaagagaagagc agtataatagcacatacagggttgtgtcagttctgacagtgcttcac caagactggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggtatctaataa ggccctgcctgcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaagggc agccaagagagccccaggtctacaccctgcctccatccagggatgaa ttaacaaagaaccaggtgagtctcacttgcctggttaaaggttttta tccctctgatattgctgtggagtgggagtctaatggccaaccagaaa ataactacaagaccacacctccagtcttggactctgatggaagcttc tttctttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggcagcaggg gaatgtgttcagctgttctgttatgcatgaggcactacacaaccatt atacccagaagtctctcagtctgtcacctggcaaa

Tabla 12. Secuencias de Aminoácidos de Cadena Pesada (HC) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia**
Teprotumumab de HC, modificado (SEQ ID NO: 43)	QVELVESGGGVVQPGRSQRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIW FDGSSTYYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCARELGRRY FDLWGRGTLVSVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Péptido señal IL-10 (SEQ ID NO: 45)	MHSSALLCCLVLLTGVRA
Lonigutamab de HC (SEQ ID NO: 85)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVRQAPGQGLEWMGWIW PGDGSTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYFCASPMITPN YAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende una secuencia de ácido nucleico, listada en la Tabla 13. En algunos aspectos, un anticuerpo que el polinucleótido descrito en la presente codifica que comprende la cadena ligera (LC) de un anticuerpo listado en la Tabla 14 o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un péptido señal, listado en la Tabla 14.

Tabla 13. Secuencias de Ácido Nucleico de Cadena Ligera (LC) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia de Ácido Nucleico de LC**
Péptido señal IL-2 - LC #1 (SEQ ID NO: 46) Completo: 705 Péptido señal IL-2: 1-60 (SEQ ID NO: 50)	atgtaccggatgcagctgctcagctgcatcgccttgtcccttg ctctggtgaccaactctgagattgtcttaacacaatcacccgc aactctgagtctatcgcctggcgaaagagcgacgctcagctgt agggcctcccagtctgtttcaagttatctggcttggtaccagc aaaagccaggacaggccccgcgcttgctgatatatgacgcaag caaacgagccaccgggatccccgctcgtttctccggttctggc agcggaacagattttactcttaccatttcctcactcgagcctg aagacttcgcagtgtactattgccagcagcggagtaagtggcc accctggacatttgggcaaggcaccaaagtagagagcaagaga actgtggccgcgccttctgtcttcatctttccaccctccgatg aacagctgaaatcgggtacggcttcagtggtttgtctgctcaa taacttctacccgagggaggccaaggtgcagtggaaggtcgac

LC: 61-705	aatgcattgcagagcggaaacagtcaagagtctgtaacagaac aggattccaaagacagcacctattcactttccagtactctgac cttatctaaggccgattacgagaaacacaaggtgtacgcttgc gaagttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaaagct ttaatcgcggcgagtgt
Péptido señal IL-2 - LC #2 (SEQ ID NO: 47) Completo: 705 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 61-705	atgtacagaatgcagctgctcagctgcattgccttgtcccttg ctctggtgaccaactctgagattgtcttaacacaatcacccgc aactctgagtctaagtcctggagaaagagcaactctcagctgt agggcctcccagtctgtttcaagttatctggcttggtaccagc aaaagccaggacaggccccgcgcttgctgatatatgatgcaag caaaagggccacagggatccccgctagattcagcggttctggc agcggaacagattttactcttaccatttcctcacttgagcctg aagactttgcagtgtactattgccagcagcggagtaagtggcc accctggacatttgggcaaggcaccaaagtagagagcaagaga actgtggccgcgccttctgtcttcatctttccaccctctgatg aacagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctgctcaa taacttctacccaagggaggccaaggtgcagtggaaggttgac aatgcattgcagagcggaaacagtcaagagtctgtaacagaac aggattccaaagacagcacctattcactttccagtactctgac cttatctaaggctgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgt gaagttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaaagct ttaatagggggggagtgt
Péptido señal IL-2 - LC #3 (SEQ ID NO: 48) Completo: 705 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 61-705	atgtacagaatgcagctgctcagctgcattgccttgtcccttg ctctggtgaccaactctgagattgtcttaacacaatcacctgc aactctgagtctaagtcctggagaaagagcaactctcagctgt agggcctcccagtctgtttcaagttatctggcttggtaccagc aaaagccaggacaggccccaaggttgctgatatatgatgcaag caaaagagccacagggatccctgctaggttctctggttctggc tctggaacagattttactcttaccatttcctcacttgagcctg aagactttgcagtgtactattgccagcagagaagtaagtggcc accctggacatttgggcaaggcaccaaagtagagagcaagaga actgtggctgcaccttctgtcttcatctttccaccctctgatg aacagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctgctcaa taacttctacccaagggaggccaaggtgcagtggaaggttgac aatgcattgcagtctggaaacagtcaagagtctgtaacagaac aggattccaaagacagcacctattcactttccagtactctgac cttatctaaggctgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgt gaagttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaaagct ttaatagggggggagtgt

Tabla 14. Secuencias de Aminoácidos de la Cadena Ligera (LC) del Anticuerpo Anti-IGF-1R

(SEQ ID NO)	Secuencia
Teprotumumab de LC, modificado (SEQ ID NO: 49)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCQQRSKWPPWTFGQGTKVESKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Péptido señal IL-2 (SEQ ID NO: 51)	MYRMQLLSCIALSLALVTNS
Lonigutamab de LC (SEQ ID NO: 90)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSRLQSGVPSRFSGRGSGTDYSLTISSLQPED FATYFCQQGSTLPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente comprende un ácido nucleico listado en las Tablas 11 y 13. En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo que comprende una HC y una LC de un anticuerpo listado en las Tablas 12 y 14 (es decir, la HC del anticuerpo listado en la Tabla 12 y la LC del mismo anticuerpo listado en la Tabla 14).

En algunos aspectos, las proteínas terapéuticas usadas en los métodos descritos en la presente son anticuerpos, (por ejemplo, anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión al antígeno de los mismos) que tienen las secuencias VH, VL, HC y/o LC de teprotumumab, así como

anticuerpos que tienen al menos 80% de identidad, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad con las secuencias VH, VL, HC y/o LC correspondientes.

En algunos aspectos, el polinucleótido también comprende una secuencia enlazadora unida operativamente a la secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena pesada y/o la secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena ligera. En algunos aspectos, el polinucleótido también comprende una secuencia de elemento de pausa unida operativamente a la secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena pesada y/o la secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena ligera.

En algunos aspectos, el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, teprotumumab) que comprende: (i) CDR de VH 1-3 (por ejemplo, 1) SEQ ID NOs: 9-11; 2) SEQ ID NOs: 12-14, o 3) SEQ ID NOs: 12, 15 y 16) y CDR de VL 1-3 (por ejemplo, 1) SEQ ID NOs: 17-19, 2) SEQ ID NOs: 17, 20 y 21; o 3) SEQ ID NOs: 17, 22 y 23); (ii) VH (por ejemplo, SEQ ID NOs: 24-26) y VL (por ejemplo, SEQ ID NOs: 29-31); (iii) HC (por ejemplo, SEQ ID NOs: 40-42) y LC (por ejemplo, SEQ ID NOs: 46-48); o (iv) una construcción que comprende cualquiera de SEQ ID NOs: 67-75,

en donde la construcción comprende además uno o más de IRES, sitio de escisión de furina, sitio 2A o un promotor doble (por ejemplo, promotor-VH-IRES-VL, etc.).

En algunos aspectos, el polinucleótido comprende un marco de lectura abierto (ORF) que comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 52-66 o una secuencia de ORF descrita en la Tabla 15.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende un marco de lectura abierto (ORF) que comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 52-66 o una secuencia de ORF descrita en la Tabla 15.

Tabla 15. Secuencias de Ácido Nucleico de ORF, Modificadas Que Codifican el Anticuerpo Anti-IGF-1R

SEQ ID NO/longitud	**Nombre**	**Secuencia**
(SEQ ID NO: 52) Completo: 2202 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398 Furina: 1399-1410 Enlazador:	ORF #1	atgcacagctccgccctgctctgctgtttggtgctt ctgaccggcgtccgggctcaggttgagttagtggaa tctggaggggtgtagtgcaacccggcagatcacag aggctgagttgcgcagcgtcgggattcacatttagc tcctacgggatgcattgggtccgccaggcccctggc aagggtctagagtgggtggctatcatttggttcgac ggatcttcaacttattacgccgatagtgttcgaggg cgttttacgataagccgggacaactccaaaaatacc ctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagat acagccgtgtacttctgtgctagggagctgggccgc cggtattttgacctttggggcagaggaactctcgtc agcgtatcctcagcaagtaccaaggggccaagcgtg

1411-1422 F2A: 1423-1494 Péptido señal IL-2: 1495-1554 LC: 1555-2198 Codón de Terminación: 2200-2202		ttcccgctggccccctcttccaaatcgacatcaggt ggcaccgcggctctgggatgcctcgttaaggattac tttcctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggg gccttgacgtctggcgtgcacacattccccgcagtc cttcagtccagcggtctgtattcattatccagtgtg gttaccgtgccttctagctccctgggaactcagacc tacatctgtaacgtaaatcataaaccaagcaacaca aaggtggacaagaaagtcgagcccaagtcttgcgat aaaacccacacttgtccgccttgcccagcccccgag ctactcgggggcccttcagtttttctgttcccaccc aagcctaaagacacattgatgattagtaggacgccc gaagtgacctgtgtcgtggtggatgtttcccatgag gacccagaagtaaagttcaattggtacgtggatggc gtcgaggtgcacaacgctaagactaaaccgcgcgaa gagcagtataatagcacataccgagtcgtgtcggtt ctgaccgtgcttcaccaagactggctcaacggaaag gagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgccc gcacctatcgaaaaaactatttcaaaggctaaaggg cagccacgtgagccccaggtctacaccctgcctcca tcccgggacgaattaacaaagaaccaggtgagtctc acgtgcctggttaaaggttttatcccagcgatatc gccgtggagtgggagtctaacggccaaccggaaaat aactacaagaccacacctccagtcttggactccgat ggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggac aaaagtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgt tccgttatgcatgaggcgctacacaaccattatacc cagaagtctctctcgctgtcacccggcaaaagaaag agaaggagtggctcaggagcccctgtgaaacagacc ctgaactttgacctcttgaagcttgctggggatgtg gagtctaatcctggtccaatgtaccggatgcagctg ctcagctgcatcgccttgtcccttgctctggtgacc aactctgagattgtcttaacacaatcacccgcaact ctgagtctatcgcctggcgaaagagcgacgctcagc tgtagggcctcccagtctgtttcaagttatctggct tggtaccagcaaaagccaggacaggccccgcgcttg ctgatatatgacgcaagcaaacgagccaccgggatc cccgctcgtttctccggttctggcagcggaacagat tttactcttaccatttcctcactcgagcctgaagac ttcgcagtgtactattgccagcagcggagtaagtgg ccaccctggacatttgggcaaggcaccaaagtagag agcaagagaactgtggccgcgccttctgtcttcatc tttccaccctccgatgaacagctgaaatcgggtacg gcttcagtggtttgtctgctcaataacttctacccg agggaggccaaggtgcagtggaaggtcgacaatgca ttgcagagcggaaacagtcaagagtctgtaacagaa caggattccaaagacagcacctattcactttccagt

		actctgaccttatctaaggccgattacgagaaacac aaggtgtacgcttgcgaagttacacatcaggggctg agctcccctgtgaccaaaagctttaatcgcggcgag tgttag
(SEQ ID NO: 53) Completo: 2202 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398 Furina: 1399-1410 Enlazador: 1411-1422 F2A: 1423-1494 Péptido señal IL-2: 1495-1554 LC: 1555-2199 Codón de Terminación: 2200-2202	ORF #2	ATGCACAGCTCCGCCCTGCTCTGCTGTTTGGTGCTT CTGACAGGAGTCAGGGCTCAGGTTGAGTTAGTGGAA TCTGGAGGGGGTGTAGTGCAACCTGGCAGATCACAG AGGCTGAGTTGCGCAGCAAGTGGATTCACATTTAGC TCCTATGGGATGCATTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGC AAGGGTCTAGAGTGGGTGGCTATCATTTGGTTTGAT GGATCTTCAACTTATTATGCTGATAGTGTTAGAGGG CGCTTTACTATAAGCAGGGACAACTCCAAAAATACC CTCTATCTGCAAATGAACTCTTTGAGAGCAGAAGAT ACAGCTGTGTACTTCTGTGCTAGGGAGCTGGGCCGC AGATATTTTGACCTTTGGGGCAGAGGAACTCTTGTC TCTGTATCCTCAGCAAGTACCAAGGGGCCATCTGTG TTCCCGCTGGCCCCCTCTTCCAAAAGTACATCAGGT GGCACCGCGGCTCTGGGATGCTTGGTTAAGGATTAC TTTCCTGAACCAGTGACTGTCAGCTGGAATAGTGGG GCCTTGACTTCTGGGGTGCACACATTCCCCGCAGTC CTTCAGTCCAGCGGTCTGTATTCATTATCCAGTGTG GTTACAGTGCCTTCTAGCTCCCTGGGAACTCAGACC TACATCTGTAATGTAAATCATAAACCAAGCAACACA AAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAGTCTTGTGAT AAAACCCACACTTGTCCGCCTTGCCCAGCCCCTGAG CTACTTGGGGGCCCTTCAGTTTTTCTGTTCCCACCC AAGCCTAAAGACACATTGATGATTAGTAGGACTCCT GAAGTGACCTGTGTTGTGGTGGATGTTTCCCATGAG GACCCAGAAGTAAAGTTCAATTGGTATGTGGATGGA GTTGAGGTGCACAATGCTAAGACTAAACCGAGGGAA GAGCAGTATAATAGCACATACAGAGTTGTGTCAGTT CTGACAGTGCTTCACCAAGACTGGCTCAATGGAAAG GAGTATAAATGCAAGGTATCTAATAAGGCCCTGCCC GCACCTATTGAAAAAACTATTTCAAAGGCTAAAGGG CAGCCAAGGGAGCCCCAGGTCTACACCCTGCCTCCA TCCAGAGATGAATTAACAAAGAACCAGGTGAGTCTC ACTTGCCTGGTTAAAGGTTTTTATCCCTCTGATATT GCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAACCAGAAAAT AACTACAAGACCACACCTCCAGTCTTGGACTCTGAT GGAAGCTTCTTTCTTTACTCAAAGCTGACTGTGGAC AAAAGTAGATGGCAGCAGGGGAATGTGTTCAGCTGT TCTGTTATGCATGAGGCGCTACACAACCATTATACC CAGAAGTCTCTCAGTCTGTCACCTGGCAAAAGAAAG AGAAGGAGTGGCTCAGGAGCCCCTGTGAAACAGACC CTGAACTTTGACCTCTTGAAGCTTGCTGGGGATGTG GAGTCTAATCCTGGTCCAATGTACAGAATGCAGCTG

		CTCAGCTGCATTGCCTTGTCCCTTGCTCTGGTGACC AACTCTGAGATTGTCTTAACACAATCACCCGCAACT CTGAGTCTAAGTCCTGGAGAAAGAGCAACTCTCAGC TGTAGGGCCTCCCAGTCTGTTTCAAGTTATCTGGCT TGGTACCAGCAAAAGCCAGGACAGGCCCCGCGCTTG CTGATATATGATGCAAGCAAAAGGGCCACAGGGATC CCCGCTAGATTCAGCGGTTCTGGCAGCGGAACAGAT TTTACTCTTACCATTTCCTCACTTGAGCCTGAAGAC TTTGCAGTGTACTATTGCCAGCAGCGGAGTAAGTGG CCACCCTGGACATTTGGGCAAGGCACCAAAGTAGAG AGCAAGAGAACTGTGGCCGCGCCTTCTGTCTTCATC TTTCCACCCTCTGATGAACAGCTGAAATCAGGTACT GCTTCAGTGGTTTGTCTGCTCAATAACTTCTACCCA AGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTTGACAATGCA TTGCAGAGCGGAAACAGTCAAGAGTCTGTAACAGAA CAGGATTCCAAAGACAGCACCTATTCACTTTCCAGT ACTCTGACCTTATCTAAGGCTGATTATGAGAAACAC AAGGTGTATGCTTGTGAAGTTACACATCAGGGGCTG AGCTCCCCTGTGACCAAAAGCTTTAATAGGGGGGAG TGTTAG
	(SEQ ID NO: 54) Completo: 1401 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398 Codón de Terminación: 1399-1401	ORF #3	atgcacagctctgccctgctctgctgtttggtgctt ctgacaggagtcagggctcaggttgagttagtggaa tctggaggggtgtagtgcaacctggcagatcacag aggctgagttgtgcagcaagtggattcacatttagc tcctatgggatgcattgggtcagacaggcccctggc aagggtctagagtgggtggctatcatttggtttgat ggatcttcaacttattatgctgatagtgttaggggg agatttactataagcagggacaactccaaaaatacc ctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagat acagctgtgtacttctgtgctagggagctgggcaga aggtattttgacctttggggcagaggaactcttgtc tctgtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtg ttcccactggccccctcttccaaaagtacatcaggt ggcacagcagctctgggatgcttggttaaggattac tttcctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggg gccttgacttctggggtgcacacattccctgcagtc cttcagtcctctggtctgtattcattatccagtgtg gttacagtgccttctagctccctgggaactcagacc tacatctgtaatgtaaatcataaaccaagcaacaca aaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgat aaaacccacacttgtccaccttgcccagcccctgag ctacttgggggcccttcagtttttctgttcccaccc aagcctaaagacacattgatgattagtaggactcct gaagtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgag gacccagaagtaaagttcaattggtatgtggatgga gttgaggtgcacaatgctaagactaaaccaagagaa

		gagcagtataatagcacatacagggttgtgtcagtt ctgacagtgcttcaccaagactggctcaatggaaag gagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgcct gcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaaggg cagccaagagagccccaggtctacaccctgcctcca tccagggatgaattaacaaagaaccaggtgagtctc acttgcctggttaaaggtttttatccctctgatatt gctgtggagtgggagtctaatggccaaccagaaaat aactacaagaccacacctccagtcttggactctgat ggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggac aaaagtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgt tctgttatgcatgaggcactacacaaccattatacc cagaagtctctcagtctgtcacctggcaaatag
(SEQ ID NO: 55) Completo: 708 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 61-705 Codón de Terminación: 706-708	ORF #4	atgtaccggatgcagctgctcagctgcatcgccttg tcccttgctctggtgaccaactctgagattgtctta acacaatcacccgcaactctgagtctatcgcctggc gaaagagcgacgctcagctgtagggcctcccagtct gtttcaagttatctggcttggtaccagcaaaagcca ggacaggccccgcgcttgctgatatatgacgcaagc aaacgagccaccgggatccccgctcgtttctccggt tctggcagcggaacagattttactcttaccatttcc tcactcgagcctgaagacttcgcagtgtactattgc cagcagcggagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggcc gcgccttctgtcttcatctttccaccctccgatgaa cagctgaaatcgggtacggcttcagtggtttgtctg ctcaataacttctacccgagggaggccaaggtgcag tggaaggtcgacaatgcattgcagagcggaaacagt caagagtctgtaacagaacaggattccaaagacagc acctattcactttccagtactctgaccttatctaag gccgattacgagaaacacaaggtgtacgcttgcgaa gttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaa agctttaatcgcggcgagtgttag
(SEQ ID NO: 56) Completo: 1401 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398 Codón de Terminación: 1399-1401	ORF #5	atgcacagctccgccctgctctgctgtttggtgctt ctgaccggcgtccgggctcaggttgagttagtggaa tctggaggggtgtagtgcaacccggcagatcacag aggctgagttgcgcagcgtcgggattcacatttagc tcctacgggatgcattgggtccgccaggcccctggc aagggtctagagtgggtggctatcatttggttcgac ggatcttcaacttattacgccgatagtgttcgaggg cgttttacgataagccgggacaactccaaaaatacc ctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagat acagccgtgtacttctgtgctagggagctgggccgc cggtattttgaccttggggcagaggaactctcgtc agcgtatcctcagcaagtaccaaggggccaagcgtg ttcccgctggccccctcttccaaatcgacatcaggt

		ggcaccgcggctctgggatgcctcgttaaggattac tttcctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggg gccttgacgtctggcgtgcacacattccccgcagtc cttcagtccagcggtctgtattcattatccagtgtg gttaccgtgccttctagctccctgggaactcagacc tacatctgtaacgtaaatcataaaccaagcaacaca aaggtggacaagaaagtcgagcccaagtcttgcgat aaaacccacacttgtccgccttgcccagcccccgag ctactcgggggcccttcagttttctgttcccaccc aagcctaaagacacattgatgattagtaggacgccc gaagtgacctgtgtcgtggtggatgtttcccatgag gacccagaagtaaagttcaattggtacgtggatggc gtcgaggtgcacaacgctaagactaaaccgcgcgaa gagcagtataatagcacataccgagtcgtgtcggtt ctgaccgtgcttcaccaagactggctcaacggaaag gagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgccc gcacctatcgaaaaaactatttcaaaggctaaaggg cagccacgtgagccccaggtctacaccctgcctcca tcccgggacgaattaacaaagaaccaggtgagtctc acgtgcctggttaaaggttttatcccagcgatatc gccgtggagtgggagtctaacggccaaccggaaaat aactacaagaccacacctccagtcttggactccgat ggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggac aaaagtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgt tccgttatgcatgaggcgctacacaaccattatacc cagaagtctctctcgctgtcacccggcaaatag
(SEQ ID NO: 57) Completo: 708 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 61-705 Codón de Terminación: 706-708	ORF #6	atgtacagaatgcagctgctcagctgcattgccttg tcccttgctctggtgaccaactctgagattgtctta acacaatcacccgcaactctgagtctaagtcctgga gaaagagcaactctcagctgtagggcctcccagtct gtttcaagttatctggcttggtaccagcaaaagcca ggacaggccccgcgcttgctgatatatgatgcaagc aaaagggccacagggatccccgctagattcagcggt tctggcagcggaacagattttactcttaccatttcc tcacttgagcctgaagactttgcagtgtactattgc cagcagcggagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggcc gcgccttctgtcttcatctttccaccctctgatgaa cagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctg ctcaataacttctacccaagggaggccaaggtgcag tggaaggttgacaatgcattgcagagcggaaacagt caagagtctgtaacagaacaggattccaaagacagc acctattcactttccagtactctgaccttatctaag gctgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaa gttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaa agctttaatagggggagtgttag

(SEQ ID NO: 58) Completo: 1401 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398 Codón de Terminación: 1399-1401	ORF #7	atgcacagctccgccctgctctgctgtttggtgctt ctgacaggagtcagggctcaggttgagttagtggaa tctggaggggtgtagtgcaacctggcagatcacag aggctgagttgcgcagcaagtggattcacatttagc tcctatgggatgcattgggtccgccaggcccctggc aagggtctagagtgggtggctatcatttggtttgat ggatcttcaacttattatgctgatagtgttagaggg cgctttactataagcagggacaactccaaaaatacc ctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagat acagctgtgtacttctgtgctagggagctgggccgc agatattttgacctttggggcagaggaactcttgtc tctgtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtg ttcccgctggccccctcttccaaaagtacatcaggt ggcaccgcggctctgggatgcttggttaaggattac tttcctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggg gccttgacttctggggtgcacacattccccgcagtc cttcagtccagcggtctgtattcattatccagtgtg gttacagtgccttctagctccctgggaactcagacc tacatctgtaatgtaaatcataaaccaagcaacaca aaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgat aaaacccacacttgtccgccttgcccagcccctgag ctacttgggggcccttcagtttttctgttcccaccc aagcctaaagacacattgatgattagtaggactcct gaagtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgag gacccagaagtaaagttcaattggtatgtggatgga gttgaggtgcacaatgctaagactaaaccgagggaa gagcagtataatagcacatacagagttgtgtcagtt ctgacagtgcttcaccaagactggctcaatggaaag gagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgccc gcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaaggg cagccaagggagccccaggtctacaccctgcctcca tccagagatgaattaacaaagaaccaggtgagtctc acttgcctggttaaaggttttatccctctgatatt gctgtggagtgggagtctaatggccaaccagaaaat aactacaagaccacacctccagtcttggactctgat ggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggac aaaagtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgt tctgttatgcatgaggcgctacacaaccattatacc cagaagtctctcagtctgtcacctggcaaatag
(SEQ ID NO: 59) Completo: 1401 Péptido señal IL-10: 1-54	ORF #8	atgcacagctccgccctgctctgctgtttggtgctt ctgacaggagtcagggctcaggttgagttagtggaa tctggaggggtgtagtgcaacctggcagatcacag aggctgagttgcgcagcaagtggattcacatttagc tcctatgggatgcattgggtccgccaggcccctggc aagggtctagagtgggtggctatcatttggtttgat ggatcttcaacttattatgctgatagtgttagaggg

HC: 55-1398 Codón de Terminación: 1399-1401		cgctttactataagcagggacaactccaaaaataccctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagatacagctgtgtacttctgtgctagggagctgggccgcagatattttgacctttggggcagaggaactcttgtctctgtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtgttcccgctggccccctcttccaaaagtacatcaggtggcaccgcggctctgggatgcttggttaaggattacttcctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggggccttgacttctggggtgcacacattccccgcagtccttcagtccagcggtctgtattcattatccagtgtggttacagtgccttctagctccctgggaactcagaccatacatctgtaatgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgataaaacccacacttgtccgccttgcccagcccctgagctacttgggggcccttcagtttttctgttcccacccaagcctaaagacacattgatgattagtaggactcctgaagtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagttcaattggtatgtggatggagttgaggtgcacaatgctaagactaaaccgagggaagagcagtataatagcacatacagagttgtgtcagttctgacagtgcttcaccaagactggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgcccgcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcagccaagggagccccaggtctacaccctgcctccatccagagatgaattaacaaagaaccaggtgagtctcacttgcctggttaaaggttttatccctctgatattgctgtggagtgggagtctaatggccaaccagaaaataactacaagaccacacctccagtcttggactctgatggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgttctgttatgcatgaggcgctacacaaccattataccagaagtctctcagtctgtcacctggcaaatag
(SEQ ID NO: 60) Completo: 1401 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398 Codón de Terminación: 1399-1401	ORF #9	atgcacagctctgccctgctctgctgtttggtgcttctgacaggagtcagggctcaggttgagttagtggaatctggaggggggtgtagtgcaacctggcagatcacagaggctgagttgtgcagcaagtggattcacatttagcttcctatgggatgcattgggtcagacaggcccctggcaagggtctagagtgggtggctatcatttggtttgatggatcttcaacttattatgctgatagtgttaggggagatttactataagcagggacaactccaaaaataccctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagatacagctgtgtacttctgtgctagggagctgggcagaaggtattttgacctttggggcagaggaactcttgtctctgtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtgttcccactggccccctcttccaaaagtacatcaggtggcacagcagctctgggatgcttggttaaggattac

		tttcctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggg gccttgacttctggggtgcacacattccctgcagtc cttcagtcctctggtctgtattcattatccagtgtg gttacagtgccttctagctccctgggaactcagacc tacatctgtaatgtaaatcataaaccaagcaacaca aaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgat aaaacccacacttgtccaccttgcccagcccctgag ctacttgggggcccttcagtttttctgttcccaccc aagcctaaagacacattgatgattagtaggactcct gaagtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgag gacccagaagtaaagttcaattggtatgtggatgga gttgaggtgcacaatgctaagactaaaccaagagaa gagcagtataatagcacatacagggttgtgtcagtt ctgacagtgcttcaccaagactggctcaatggaaag gagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgcct gcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaaggg cagccaagagagccccaggtctacaccctgcctcca tccagggatgaattaacaaagaaccaggtgagtctc acttgcctggttaaaggttttatccctctgatatt gctgtggagtgggagtctaatggccaaccagaaaat aactacaagaccacacctccagtcttggactctgat ggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggac aaaagtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgt tctgttatgcatgaggcactacacaaccattatacc cagaagtctctcagtctgtcacctggcaaatag
(SEQ ID NO: 61) Completo: 708 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 61-705 Codón de Terminación: 706-708	ORF #10	atgtacagaatgcagctgctcagctgcattgccttg tcccttgctctggtgaccaactctgagattgtctta acacaatcacctgcaactctgagtctaagtcctgga gaaagagcaactctcagctgtagggcctcccagtct gtttcaagttatctggcttggtaccagcaaaagcca ggacaggccccaaggttgctgatatatgatgcaagc aaaagagccacagggatccctgctaggttctctggt tctggctctggaacagattttactcttaccatttcc tcacttgagcctgaagactttgcagtgtactattgc cagcagagaagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggct gcaccttctgtcttcatctttccaccctctgatgaa cagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctg ctcaataacttctacccaagggaggccaaggtgcag tggaaggttgacaatgcattgcagtctggaaacagt caagagtctgtaacagaacaggattccaaagacagc acctattcactttccagtactctgaccttatctaag gctgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaa gttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaa agctttaatagggggagtgttag

(SEQ ID NO: 62) Completo: 708 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 61-705 Codón de Terminación: 706-708	ORF #11	atgtacagaatgcagctgctcagctgcattgccttg tcccttgctctggtgaccaactctgagattgtctta acacaatcacctgcaactctgagtctaagtcctgga gaaagagcaactctcagctgtagggcctcccagtct gtttcaagttatctggcttggtaccagcaaaagcca ggacaggccccaaggttgctgatatatgatgcaagc aaaagagccacagggatccctgctaggttctctggt tctggctctggaacagattttactcttaccatttcc tcacttgagcctgaagactttgcagtgtactattgc cagcagagaagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggct gcaccttctgtcttcatctttccaccctctgatgaa cagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctg ctcaataacttctacccaagggaggccaaggtgcag tggaaggttgacaatgcattgcagtctggaaacagt caagagtctgtaacagaacaggattccaaagacagc acctattcactttccagtactctgaccttatctaag gctgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaa gttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaa agctttaatagggggagtgttag
(SEQ ID NO: 63) Completo: 2694 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 61-705 Codón de Terminación: 706-708 IRES: 709-1293 Péptido señal IL-10: 1294-1347 HC: 1348-2691 Codón de Terminación: 2692-2694	ORF #12	atgtaccggatgcagctgctcagctgcatcgccttg tcccttgctctggtgaccaactctgagattgtctta acacaatcacccgcaactctgagtctatcgcctggc gaaagagcgacgctcagctgtagggcctcccagtct gtttcaagttatctggcttggtaccagcaaaagcca ggacaggccccgcgcttgctgatatatgacgcaagc aaacgagccaccgggatccccgctcgtttctccggt tctggcagcggaacagattttactcttaccatttcc tcactcgagcctgaagacttcgcagtgtactattgc cagcagcggagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggcc gcgccttctgtcttcatctttccaccctccgatgaa cagctgaaatcgggtacggcttcagtggtttgtctg ctcaataacttctacccgagggaggccaaggtgcag tggaaggtcgacaatgcattgcagagcggaaacagt caagagtctgtaacagaacaggattccaaagacagc acctattcactttccagtactctgaccttatctaag gccgattacgagaaacacaaggtgtacgcttgcgaa gttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaa agctttaatcgcggcgagtgttaggcccctctccct ccccccccccctaacgttactggccgaagccgcttgg aataaggccggtgtgcgtttgtctatatgttatttt ccaccatattgccgtcttttggcaatgtgagggccc ggaaacctggccctgtcttcttgacgagcattccta ggggtctttcccctctcgccaaaggaatgcaaggtc tgttgaatgtcgtgaaggaagcagttcctctggaag

		cttcttgaagacaaacaacgtctgtagcgacccttt gcaggcagcggaacccccacctggcgacaggtgcc tctgcggccaaaagccacgtgtataagatacacctg caaaggcggcacaaccccagtgccacgttgtgagtt ggatagttgtggaaagagtcaaatggctctcctcaa gcgtattcaacaaggggctgaaggatgcccagaagg taccccattgtatgggatctgatctggggcctcggt acacatgctttacatgtgtttagtcgaggttaaaaa aacgtctaggcccccgaaccacggggacgtggttt tcctttgaaaaacacgatgataatatggccacaatg cacagctccgccctgctctgctgtttggtgcttctg accggcgtccgggctcaggttgagttagtggaatct ggaggggtgtagtgcaacccggcagatcacagagg ctgagttgcgcagcgtcgggattcacatttagctcc tacgggatgcattgggtccgccaggcccctggcaag ggtctagagtgggtggctatcatttggttcgacgga tcttcaacttattacgccgatagtgttcgagggcgt tttacgataagccgggacaactccaaaaataccctc tatctgcaaatgaactctttgagagcagaagataca gccgtgtacttctgtgctagggagctgggccgccgg tattttgacctttggggcagaggaactctcgtcagc gtatcctcagcaagtaccaaggggccaagcgtgttc ccgctggccccctcttccaaatcgacatcaggtggc accgcggctctgggatgcctcgttaaggattacttt cctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggggcc ttgacgtctggcgtgcacacattccccgcagtcctt cagtccagcggtctgtattcattatccagtgtggtt accgtgccttctagctccctgggaactcagacctac atctgtaacgtaaatcataaaccaagcaacacaaag gtggacaagaaagtcgagcccaagtcttgcgataaa acccacacttgtccgccttgcccagcccccgagcta ctcgggggcccttcagtttttctgttcccacccaag cctaaagacacattgatgattagtaggacgcccgaa gtgacctgtgtcgtggtggatgtttcccatgaggac ccagaagtaaagttcaattggtacgtggatggcgtc gaggtgcacaacgctaagactaaaccgcgcgaagag cagtataatagcacataccgagtcgtgtcggttctg accgtgcttcaccaagactggctcaacggaaaggag tataaatgcaaggtatctaataaggccctgcccgca cctatcgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcag ccacgtgagccccaggtctacaccctgcctccatcc cgggacgaattaacaaagaaccaggtgagtctcacg tgcctggttaaaggttttatcccagcgatatcgcc gtggagtgggagtctaacggccaaccggaaaataac tacaagaccacacctccagtcttggactccgatgga agcttctttctttactcaaagctgactgtggacaaa

		agtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgttcc gttatgcatgaggcgctacacaaccattatacccag aagtctctctcgctgtcacccggcaaatag
(SEQ ID NO: 64) Completo: 2700 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 91-705 IRES: 709-1293 Péptido señal IL-10: 1294-1347 HC: 1294-2697 Codón de Terminación: 2698-2700	ORF #13	atgtacagaatgcagctgctcagctgcattgccttg tcccttgctctggtgaccaactctgagattgtctta acacaatcacccgcaactctgagtctaagtcctgga gaaagagcaactctcagctgtagggcctcccagtct gtttcaagttatctggcttggtaccagcaaaagcca ggacaggccccgcgcttgctgatatatgatgcaagc aaaagggccacagggatccccgctagattcagcggt tctggcagcggaacagattttactcttaccatttcc tcacttgagcctgaagactttgcagtgtactattgc cagcagcggagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggcc gcgccttctgtcttcatctttccaccctctgatgaa cagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctg ctcaataacttctacccaagggaggccaaggtgcag tggaaggttgacaatgcattgcagagcggaaacagt caagagtctgtaacagaacaggattccaaagacagc acctattcactttccagtactctgaccttatctaag gctgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaa gttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaa agctttaatagggggagtgttaggcccctctccct ccccccccccctaacgttactggccgaagccgcttgg aataaggccggtgtgcgtttgtctatatgttatttt ccaccatattgccgtcttttggcaatgtgagggccc ggaaacctggccctgtcttcttgacgagcattccta ggggtctttcccctctcgccaaaggaatgcaaggtc tgttgaatgtcgtgaaggaagcagttcctctggaag cttcttgaagacaaacaacgtctgtagcgacccttt gcaggcagcggaacccccccacctggcgacaggtgcc tctgcggccaaaagccacgtgtataagatacacctg caaaggcggcacaaccccagtgccacgttgtgagtt ggatagttgtggaaagagtcaaatggctctcctcaa gcgtattcaacaaggggctgaaggatgcccagaagg taccccattgtatgggatctgatctggggcctcggt acacatgctttacatgtgtttagtcgaggttaaaaa aacgtctaggccccccgaaccacggggacgtggttt tcctttgaaaaacacgatgataatatggccacaatg cacagctccgccctgctctgctgtttggtgcttctg acaggagtcagggctcaggttgagttagtggaatct ggaggggtgtagtgcaacctggcagatcacagagg ctgagttgcgcagcaagtggattcacatttagctcc tatgggatgcattgggtccgccaggcccctggcaag ggtctagagtgggtggctatcatttggtttgatgga tcttcaacttattatgctgatagtgttagagggcgc

		tttactataagcagggacaactccaaaaataccctc tatctgcaaatgaactctttgagagcagaagataca gctgtgtacttctgtgctagggagctgggccgcaga tattttgacctttggggcagaggaactcttgtctct gtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtgttc ccgctggccccctcttccaaaagtacatcaggtggc accgcggctctgggatgcttggttaaggattacttt cctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggggcc ttgacttctggggtgcacacattccccgcagtcctt cagtccagcggtctgtattcattatccagtgtggtt acagtgccttctagctccctgggaactcagacctac atctgtaatgtaaatcataaaccaagcaacacaaag gtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgataaa acccacacttgtccgccttgcccagcccctgagcta cttgggggcccttcagtttttctgttcccacccaag cctaaagacacattgatgattagtaggactcctgaa gtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgaggac ccagaagtaaagttcaattggtatgtggatggagtt gaggtgcacaatgctaagactaaaccgagggaagag cagtataatagcacatacagagttgtgtcagttctg acagtgcttcaccaagactggctcaatggaaaggag tataaatgcaaggtatctaataaggccctgcccgca cctattgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcag ccaagggagccccaggtctacaccctgcctccatcc agagatgaattaacaaagaaccaggtgagtctcact tgcctggttaaaggttttatccctctgatattgct gtggagtgggagtctaatggccaaccagaaaataac tacaagaccacacctccagtcttggactctgatgga agcttctttctttactcaaagctgactgtggacaaa agtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgttct gttatgcatgaggcgctacacaaccattatacccag aagtctctcagtctgtcaccggcaaatagcaattga
(SEQ ID NO: 65) Completo: 2211 Péptido señal IL-10: 1-54 HC: 55-1398 Codón de Terminación: 1399-1402 Enlazador: 1403-1407 Furina: 1408-1419 Enlazador:	ORF #14	atgcacagctctgccctgctctgctgtttggtgctt ctgacaggagtcagggctcaggttgagttagtggaa tctggaggggtgtagtgcaacctggcagatcacag aggctgagttgtgcagcaagtggattcacatttagc tcctatgggatgcattgggtcagacaggcccctggc aagggtctagagtgggtggctatcatttggtttgat ggatcttcaacttattatgctgatagtgttaggggg agatttactataagcagggacaactccaaaaatacc ctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagat acagctgtgtacttctgtgctagggagctgggcaga aggtattttgacctttggggcagaggaactcttgtc tctgtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtg ttcccactggccccctcttccaaaagtacatcaggt ggcacagcagctctgggatgcttggttaaggattac

1420-1431 F2A: 1432-1503 Péptido señal IL-2: 1505-1563 LC: 1564-2208 Codón de Terminación: 2209-2211		tttcctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggg gccttgacttctggggtgcacacattccctgcagtc cttcagtcctctggtctgtattcattatccagtgtg gttacagtgccttctagctccctgggaactcagacc tacatctgtaatgtaaatcataaaccaagcaacaca aaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgat aaaacccacacttgtccaccttgcccagcccctgag ctacttgggggcccttcagtttttctgttcccaccc aagcctaaagacacattgatgattagtaggactcct gaagtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgag gacccagaagtaaagttcaattggtatgtggatgga gttgaggtgcacaatgctaagactaaaccaagagaa gagcagtataatagcacatacagggttgtgtcagtt ctgacagtgcttcaccaagactggctcaatggaaag gagtataaatgcaaggtatctaataaggccctgcct gcacctattgaaaaaactatttcaaaggctaaaggg cagccaagagagccccaggtctacaccctgcctcca tccagggatgaattaacaaagaaccaggtgagtctc acttgcctggttaaaggttttatccctctgatatt gctgtggagtgggagtctaatggccaaccagaaaat aactacaagaccacacctccagtcttggactctgat ggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggac aaaagtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgt tctgttatgcatgaggcactacacaaccattatacc cagaagtctctcagtctgtcacctggcaaatagggc aaaagaaagagaaggagtggctcaggagcccctgtg aaacagaccctgaactttgacctcttgaagcttgct ggggatgtggagtctaatcctggtccaatgtacaga atgcagctgctcagctgcattgccttgtcccttgct ctggtgaccaactctgagattgtcttaacacaatca cctgcaactctgagtctaagtcctggagaaagagca actctcagctgtagggcctcccagtctgtttcaagt tatctggcttggtaccagcaaaagccaggacaggcc ccaaggttgctgatatatgatgcaagcaaaagagcc acagggatccctgctaggttctctggttctggctct ggaacagattttactcttaccatttcctcacttgag cctgaagactttgcagtgtactattgccagcagaga agtaagtggccaccctggacatttgggcaaggcacc aaagtagagagcaagagaactgtggctgcaccttct gtcttcatctttccaccctctgatgaacagctgaaa tcaggtactgcttcagtggtttgtctgctcaataac ttctacccaagggaggccaaggtgcagtggaaggtt gacaatgcattgcagtctggaaacagtcaagagtct gtaacagaacaggattccaaagacagcacctattca ctttccagtactctgaccttatctaaggctgattat gagaaacacaaggtgtatgcttgtgaagttacacat

		caggggctgagctcccctgtgaccaaaagctttaat aggggggagtgttag
(SEQ ID NO: 66) Completo: 2694 Péptido señal IL-2: 1-60 LC: 61-705 Codón de Terminación: 706-708 IRES: 709-1293 Péptido señal IL-10: 1294-1347 HC: 1348-2691 Codón de Terminación: 2692-2694	ORF #15	atgtacagaatgcagctgctcagctgcattgccttg tcccttgctctggtgaccaactctgagattgtctta acacaatcacctgcaactctgagtctaagtcctgga gaaagagcaactctcagctgtagggcctcccagtct gtttcaagttatctggcttggtaccagcaaaagcca ggacaggccccaaggttgctgatatatgatgcaagc aaaagagccacagggatccctgctaggttctctggt tctggctctggaacagattttactcttaccatttcc tcacttgagcctgaagactttgcagtgtactattgc cagcagagaagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggct gcaccttctgtcttcatctttccaccctctgatgaa cagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctg ctcaataacttctacccaagggaggccaaggtgcag tggaaggttgacaatgcattgcagtctggaaacagt caagagtctgtaacagaacaggattccaaagacagc acctattcactttccagtactctgaccttatctaag gctgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaa gttacacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaa agctttaataggggggagtgttaggcccctctccct ccccccccccctaacgttactggccgaagccgcttgg aataaggccggtgtgcgtttgtctatatgttatttt ccaccatattgccgtcttttggcaatgtgagggccc ggaaacctggccctgtcttcttgacgagcattccta ggggtctttcccctctcgccaaaggaatgcaaggtc tgttgaatgtcgtgaaggaagcagttcctctggaag cttcttgaagacaaacaacgtctgtagcgacccttt gcaggcagcggaacccccccacctggcgacaggtgcc tctgcggccaaaagccacgtgtataagatacacctg caaaggcggcacaaccccagtgccacgttgtgagtt ggatagttgtggaaagagtcaaatggctctcctcaa gcgtattcaacaaggggctgaaggatgcccagaagg taccccattgtatgggatctgatctggggcctcggt acacatgctttacatgtgtttagtcgaggttaaaaa aacgtctaggccccccgaaccacggggacgtggttt tcctttgaaaaacacgatgataatatggccacaatg cacagctctgccctgctctgctgtttggtgcttctg acaggagtcagggctcaggttgagttagtggaatct ggagggggtgtagtgcaacctggcagatcacagagg ctgagttgtgcagcaagtggattcacatttagctcc tatgggatgcattgggtcagacaggcccctggcaag ggtctagagtgggtggctatcatttggtttgatgga tcttcaacttattatgctgatagtgttaggggaga tttactataagcagggacaactccaaaaataccctc

		tatctgcaaatgaactctttgagagcagaagataca gctgtgtacttctgtgctagggagctgggcagaagg tattttgacctttggggcagaggaactcttgtctct gtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtgttc ccactggccccctcttccaaaagtacatcaggtggc acagcagctctgggatgcttggttaaggattacttt cctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggggcc ttgacttctggggtgcacacattccctgcagtcctt cagtcctctggtctgtattcattatccagtgtggtt acagtgccttctagctccctgggaactcagacctac atctgtaatgtaaatcataaaccaagcaacacaaag gtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgataaa acccacacttgtccaccttgcccagcccctgagcta cttgggggcccttcagtttttctgttcccacccaag cctaaagacacattgatgattagtaggactcctgaa gtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgaggac ccagaagtaaagttcaattggtatgtggatggagtt gaggtgcacaatgctaagactaaaccaagagaagag cagtataatagcacatacagggttgtgtcagttctg acagtgcttcaccaagactggctcaatggaaaggag tataaatgcaaggtatctaataaggccctgcctgca cctattgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcag ccaagagagccccaggtctacaccctgcctccatcc agggatgaattaacaaagaaccaggtgagtctcact tgcctggttaaaggtttttatccctctgatattgct gtggagtgggagtctaatggccaaccagaaaataac tacaagaccacacctccagtcttggactctgatgga agcttctttctttactcaaagctgactgtggacaaa agtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgttct gttatgcatgaggcactacacaaccattatacccag aagtctctcagtctgtcacctggcaaatag

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de nucleótidos al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 67-75 o una secuencia de casete de expresión de anticuerpos descrita en la Tabla 16.

Tabla 16. Casetes de Expresión Que Codifican para un Anticuerpo Anti-IGF-1R

SEQ ID NO/longitud	Nombre	Secuencia
(SEQ ID NO: 67) Completo: 4479 ITR: 1-130 Potenciador de CMV: 149-528 Promotor de CBA: 531-806 Intrón de CAG: 807-1870 Péptido señal IL-10: 1898-1951 HC: 1952-3295 Sitio de escisión de furina: 3296-3307 Enlazador: 3308-3319 F2A: 3320-3391 Péptido señal IL-2: 3392-3451 LC: 3452-4096 Codón de Terminación:	EC #1 H-F2A-L	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatgggtcgaggtgagccccacgttctgctt cactctccccatctcccccccctccccacccccaatt ttgtatttatttatttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggcgcgcgccaggcgggg cggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggag aggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcggc cctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgc tgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgcc gcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgt tactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcc tccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggctc gtttcttttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggc tccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcggg gggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcg tgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcg ggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcg cgagaggagcgcggccgggggcggtgccacgcggtgc ggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggg gtgtgtgcgtgggggggggtgagcaggggggtgtgggcg cggcggtcgggctgtaacccccccctgcacccccctc cccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggg gctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgccgtgccg ggcgggggggtggcggcgggtgggggtgccgggcgggg cggggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggg

4097-4099 bGHpA: 4106-4329 ITR: 4339-4479		gcgcggcggcccccggagcgccggcggctgtcgaggc gcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgt gcgagagggcgcagggacttcctttgtcccaaatctg tgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcaccccc tctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggca ggaaggaaatgggcggggagggccttcgtgcgtcgcc gcgccgccgtcccccttctccctctccagcctcggggc tgtccgcgggggggacggctgccttcgggggggacggg gcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcgg tctagactctgctaaccatgttcatgccttcttctct ttcctacagctcctgggcaacgtgctggttgttgtgc tgtctcatcattttggcaaagaattcaagcttccagc tagcgccaccatgcacagctccgccctgctctgctgt ttggtgcttctgaccggcgtccgggctcaggttgagt tagtggaatctggaggggtgtagtgcaacccggcag atcacagaggctgagttgcgcagcgtcgggattcaca tttagctcctacgggatgcattgggtccgccaggccc ctggcaagggtctagagtgggtggctatcatttggtt cgacggatcttcaacttattacgccgatagtgttcga gggcgttttacgataagccgggacaactccaaaaata ccctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaaga tacagccgtgtacttctgtgctagggagctgggccgc cggtattttgacctttggggcagaggaactctcgtca gcgtatcctcagcaagtaccaaggggccaagcgtgtt cccgctggccccctcttccaaatcgacatcaggtggc accgcggctctgggatgcctcgttaaggattactttc ctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggggcctt gacgtctggcgtgcacacattccccgcagtccttcag tccagcggtctgtattcattatccagtgtggttaccg tgccttctagctccctgggaactcagacctacatctg taacgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggac aagaaagtcgagcccaagtcttgcgataaaacccaca cttgtccgccttgcccagcccccgagctactcggggg cccttcagttttctgttcccacccaagcctaaagac acattgatgattagtaggacgcccgaagtgacctgtg tcgtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaa gttcaattggtacgtggatggcgtcgaggtgcacaac gctaagactaaaccgcgcgaagagcagtataatagca cataccgagtcgtgtcggttctgaccgtgcttcacca agactggctcaacggaaaggagtataaatgcaaggta tctaataaggccctgcccgcacctatcgaaaaaacta tttcaaaggctaaagggcagccacgtgagccccaggt ctacaccctgcctccatcccgggacgaattaacaaag aaccaggtgagtctcacgtgcctggttaaaggttttt atcccagcgatatcgccgtggagtgggagtctaacgg

		ccaaccggaaaataactacaagaccacacctccagtc ttggactccgatggaagcttctttctttactcaaagc tgactgtggacaaaagtagatggcagcaggggaatgt gttcagctgttccgttatgcatgaggcgctacacaac cattatacccagaagtctctctcgctgtcacccggca aaagaaagagaaggagtggctcaggagcccctgtgaa acagaccctgaactttgacctcttgaagcttgctggg gatgtggagtctaatcctggtccaatgtaccggatgc agctgctcagctgcatcgccttgtcccttgctctggt gaccaactctgagattgtcttaacacaatcacccgca actctgagtctatcgcctggcgaaagagcgacgctca gctgtagggcctcccagtctgtttcaagttatctggc ttggtaccagcaaaagccaggacaggccccgcgcttg ctgatatatgacgcaagcaaacgagccaccgggatcc ccgctcgtttctccggttctggcagcggaacagattt tactcttaccatttcctcactcgagcctgaagacttc gcagtgtactattgccagcagcggagtaagtggccac cctggacatttgggcaaggcaccaaagtagagagcaa gagaactgtggccgcgccttctgtcttcatctttcca ccctccgatgaacagctgaaatcgggtacggcttcag tggtttgtctgctcaataacttctacccgagggaggc caaggtgcagtggaaggtcgacaatgcattgcagagc ggaaacagtcaagagtctgtaacagaacaggattcca aagacagcacctattcactttccagtactctgacctt atctaaggccgattacgagaaacacaaggtgtacgct tgcgaagttacacatcaggggctgagctcccctgtga ccaaaagctttaatcgcggcgagtgttagcaattgct gtgccttctagttgccagccatctgttgtttgcccct cccccgtgccttccttgaccctggaaggtgccactcc cactgtcctttcctaataaaatgaggaaattgcatcg cattgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtg gggtggggcaggacagcaaggggaggattgggaaga caatagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatg gagctcgagaggaacccctagtgatggagttggccac tccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccggg cgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccggg cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcagatc tg
(SEQ ID NO: 68) Completo: 4799 ITR: 1-130 Potenciador de	EC #2 L-IRES-H	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct

CMV: 149-528 Promotor de CBA: 531-806 Intrón de CAG: 807-1870 Péptido señal IL-2: 1898-1957 LC: 1958-2602 Codón de Terminación: 2603-2605 IRES2: 2606-3190 Péptido señal IL-10: 3191-3244 HC: 3245-4588 Codón de Terminación: 4589-4591 Poli(A) sintético: 4601-4649 ITR: 4659-4799		gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatgggtcgaggtgagccccacgttctgctt cactctccccatctcccccccctccccacccccaatt ttgtatttatttatttttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggcgcgcgccaggcgggg cggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggag aggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcggc cctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgc tgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgcc gcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgt tactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcc tccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggctc gtttcttttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggc tccgggagggccctttgtgcgggggagcggctcggg gggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcg tgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcg ggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcg cgagaggagcgcggccgggggcggtgccacgcggtgc ggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggg gtgtgtgcgtgggggggggtgagcaggggggtgtgggcg cggcggtcgggctgtaacccccccctgcacccccctc cccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggg gctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgccgtgccg ggcgggggggtggcggcgggtgggggtgccgggcgggg cggggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggg gcgcggcggcccccggagcgccggcggctgtcgaggc gcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgt gcgagagggcgcagggacttcctttgtcccaaatctg tgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcacccccc tctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggca ggaaggaaatgggcggggagggccttcgtgcgtcgcc gcgccgccgtccccttctccctctccagcctcggggc tgtccgcgggggggacggctgccttcgggggggacggg gcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcgg tctagactctgctaaccatgttcatgccttcttctct ttcctacagctcctgggcaacgtgctggttgttgtgc tgtctcatcattttggcaaagaattcaagcttccagc tagcgccaccatgtaccggatgcagctgctcagctgc

		atcgccttgtcccttgctctggtgaccaactctgaga ttgtcttaacacaatcacccgcaactctgagtctatc gcctggcgaaagagcgacgctcagctgtagggcctcc cagtctgtttcaagttatctggcttggtaccagcaaa agccaggacaggccccgcgcttgctgatatatgacgc aagcaaacgagccaccgggatccccgctcgtttctcc ggttctggcagcggaacagattttactcttaccattt cctcactcgagcctgaagacttcgcagtgtactattg ccagcagcggagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggccg cgccttctgtcttcatctttccaccctccgatgaaca gctgaaatcgggtacggcttcagtggtttgtctgctc aataacttctacccgagggaggccaaggtgcagtgga aggtcgacaatgcattgcagagcggaaacagtcaaga gtctgtaacagaacaggattccaaagacagcacctat tcactttccagtactctgaccttatctaaggccgatt acgagaaacacaaggtgtacgcttgcgaagttacaca tcaggggctgagctcccctgtgaccaaaagctttaat cgcggcgagtgttaggcccctctccctcccccccccc taacgttactggccgaagccgcttggaataaggccgg tgtgcgtttgtctatatgttattttccaccatattgc cgtcttttggcaatgtgagggcccggaaacctggccc tgtcttcttgacgagcattcctaggggtctttcccct ctcgccaaaggaatgcaaggtctgttgaatgtcgtga aggaagcagttcctctggaagcttcttgaagacaaac aacgtctgtagcgacccttgcaggcagcggaacccc ccacctggcgacaggtgcctctgcggccaaaagccac gtgtataagatacacctgcaaaggcggcacaacccca gtgccacgttgtgagttggatagttgtggaaagagtc aaatggctctcctcaagcgtattcaacaaggggctga aggatgcccagaaggtaccccattgtatgggatctga tctggggcctcggtacacatgctttacatgtgtttag tcgaggttaaaaaaacgtctaggcccccgaaccacg gggacgtggttttcctttgaaaaacacgatgataata tggccacaatgcacagctccgccctgctctgctgttt ggtgcttctgaccggcgtccgggctcaggttgagtta gtggaatctggaggggtgtagtgcaacccggcagat cacagaggctgagttgcgcagcgtcgggattcacatt tagctcctacgggatgcattgggtccgccaggccctt ggcaagggtctagagtgggtggctatcatttggttcg acggatcttcaacttattacgccgatagtgttcgagg gcgttttacgataagccgggacaactccaaaaatacc ctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagata cagccgtgtacttctgtgctagggagctgggccgccg gtattttgacctttggggcagaggaactctcgtcagc

		gtatcctcagcaagtaccaaggggccaagcgtgttcc cgctggccccctcttccaaatcgacatcaggtggcac cgcggctctgggatgcctcgttaaggattactttcct gaaccagtgactgtcagctggaatagtggggccttga cgtctggcgtgcacacattccccgcagtccttcagtc cagcggtctgtattcattatccagtgtggttaccgtg ccttctagctccctgggaactcagacctacatctgta acgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggacaa gaaagtcgagcccaagtcttgcgataaaacccacact tgtccgccttgcccagcccccgagctactcgggggcc cttcagtttttctgttcccacccaagcctaaagacac attgatgattagtaggacgcccgaagtgacctgtgtc gtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagt tcaattggtacgtggatggcgtcgaggtgcacaacgc taagactaaaccgcgcgaagagcagtataatagcaca taccgagtcgtgtcggttctgaccgtgcttcaccaag actggctcaacggaaaggagtataaatgcaaggtatc taataaggccctgcccgcacctatcgaaaaaactatt tcaaaggctaaagggcagccacgtgagccccaggtct acaccctgcctccatcccgggacgaattaacaaagaa ccaggtgagtctcacgtgcctggttaaaggttttat cccagcgatatcgccgtggagtgggagtctaacggcc aaccggaaaataactacaagaccacacctccagtctt ggactccgatggaagcttctttctttactcaaagctg actgtggacaaaagtagatggcagcaggggaatgtgt tcagctgttccgttatgcatgaggcgctacacaacca ttatacccagaagtctctctcgctgtcacccggcaaa tagtgacaattgaataaaagatctttattttcattag atctgtgtgttggtttttgtgtggagctcgagagga acccctagtgatggagttggccactccctctctgcgc gctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcg cccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgag cgagcgagcgcgcagctgcagatctg
(SEQ ID NO: 69) Completo: 4288 ITR: 1-130 Potenciador de CMV: 149-528 Promotor de CMV: 529-732	EC #3 Doble	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc

Intrón de SV40: 791-887 Péptido señal IL-12: 954-1013 LC: 1014-1658 Codón de Terminación: 1659-1661 poli(A) de bGH: 1668-1842 Sitio de pausa: 1857-1948 Promotor EF-1α: 1967-2196 LTR 5' (truncado): 2209-2477 Intrón quimérico de HBG/IgHC: 2504-2636 Péptido señal IL-10: 2686-2739 HC: 2739-4083 Codón de Terminación: 4084-4086 Poli(A) sintético:		gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaat gggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaa gtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttg gcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaac aactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtg tacggtgggaggtctatataagcagagctcgtttagt gaaccgtcagatcgcctggagaaggaactgaaaaacc agaaagttaactggtaagtttagtcttttgtctttt atttcaggtcccggatccggtggtggtgcaaatcaaa gaactgctcctcagtggatgttgcctttacttctagg cctgtacggaagtgttacttctgctctaaaagctgcg gaattgtagcccggttaattaagccaccatgtaccgg atgcagctgctcagctgcatcgccttgtcccttgctc tggtgaccaactctgagattgtcttaacacaatcacc cgcaactctgagtctatcgcctggcgaaagagcgacg ctcagctgtagggcctcccagtctgtttcaagttatc tggcttggtaccagcaaaagccaggacaggccccgcg cttgctgatatatgacgcaagcaaacgagccaccggg atccccgctcgtttctccggttctggcagcggaacag attttactcttaccatttcctcactcgagcctgaaga cttcgcagtgtactattgccagcagcggagtaagtgg ccaccctggacatttgggcaaggcaccaaagtagaga gcaagagaactgtggccgcgccttctgtcttcatctt tccaccctccgatgaacagctgaaatcgggtacggct tcagtggtttgtctgctcaataacttctacccgaggg aggccaaggtgcagtggaaggtcgacaatgcattgca gagcggaaacagtcaagagtctgtaacagaacaggat tccaaagacagcacctattcactttccagtactctga ccttatctaaggccgattacgagaaacacaaggtgta cgcttgcgaagttacacatcaggggctgagctcccct gtgaccaaaagctttaatcgcggcgagtgttaggcat gcctgtgccttctagttgccagccatctgttgtttgc ccctccccccgtgccttccttgaccctggaaggtgcca ctcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaattgc atcgcattgtctgagtaggtgtcattctattctgggg ggtggggtggggcaggacagcaaggggaggattctc agaactaacatacgctctccatcaaaacaaaacgaaa caaaacaaactagcaaaataggctgtccccagtgcaa gtgcaggtgccagaacatttctctatcgaaggatctg cgatcgctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcaca tcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcg gcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggt aaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctt

25

4093-4141 ITR: 4148-4288		tttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcag tagtcgccgtgaacgttctttttcgcaacgggtttgc cgccagaacacagctgaagcttcgaggggctcgcatc tctccttcacgcgcccgccgccctacctgaggccgcc atccacgccggttgagtcgcgttctgccgcctcccgc ctgtggtgcctcctgaactgcgtccgccgtctaggta agtttaaagctcaggtcgagaccgggcctttgtccgg cgctcccttggagcctacctagactcagccggctctc cacgctttgcctgaccctgcttgctcaactctacgtc tttgtttcgttttctgttctgcgccgttacagatcga agttggtcgtgaggcactgggcaggtaagtatcaagg ttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactggg cttgtcgagacagagaagactcttgcgtttctgatag gcacctattggtcttactgacatccactttgcctttc tctccacaggtgtccactcccagttcaattacagctc ttaaggctagtttaaaccaccatgcacagctccgccc tgctctgctgtttggtgcttctgaccggcgtccgggc tcaggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtg caacccggcagatcacagaggctgagttgcgcagcgt cgggattcacatttagctcctacgggatgcattgggt ccgccaggcccctggcaagggtctagagtgggtggct atcatttggttcgacggatcttcaacttattacgccg atagtgttcgagggcgttttacgataagccgggacaa ctccaaaaataccctctatctgcaaatgaactctttg agagcagaagatacagccgtgtacttctgtgctaggg agctgggccgccggtattttgacctttggggcagagg aactctcgtcagcgtatcctcagcaagtaccaaggggg ccaagcgtgttcccgctggccccctcttccaaatcga catcaggtggcaccgcggctctgggatgcctcgttaa ggattactttcctgaaccagtgactgtcagctggaat agtggggccttgacgtctggcgtgcacacattccccg cagtccttcagtccagcggtctgtattcattatccag tgtggttaccgtgccttctagctccctgggaactcag acctacatctgtaacgtaaatcataaaccaagcaaca caaaggtggacaagaaagtcgagcccaagtcttgcga taaaacccacacttgtccgccttgcccagcccccgag ctactcgggggcccttcagttttttctgttcccaccca agcctaaagacacattgatgattagtaggacgcccga agtgacctgtgtcgtggtggatgtttcccatgaggac ccagaagtaaagttcaattggtacgtggatggcgtcg aggtgcacaacgctaagactaaaccgcgcgaagagca gtataatagcacataccgagtcgtgtcggttctgacc gtgcttcaccaagactggctcaacggaaaggagtata aatgcaaggtatctaataaggccctgcccgcacctat cgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcagccacgt

		gagccccaggtctacaccctgcctccatcccgggacg aattaacaaagaaccaggtgagtctcacgtgcctggt taaaggttttatcccagcgatatcgccgtggagtgg gagtctaacggccaaccggaaaataactacaagacca cacctccagtcttggactccgatggaagcttctttct ttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggcag caggggaatgtgttcagctgttccgttatgcatgagg cgctacacaaccattatacccagaagtctctctcgct gtcacccggcaaatagcctaggaataaaagatcttta ttttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtgctc gagaggaacccctagtgatggagttggccactccctc tctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgacca aaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcct cagtgagcgagcgagcgcgcagctgcagatctg
(SEQ ID NO: 70) Completo: 4479 ITR: 1-130 Potenciador de CMV: 149-528 Promotor de CBA: 531-806 Intrón de CAG: 807-1870 Péptido señal IL-10: 1898-1951 HC: 1952-3295 Furina: 3296-3307 Enlazador: 3308-3319 F2A: 3320-3391 Péptido señal	EC #4 H-F2A-L	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatgggtcgaggtgagccccacgttctgctt cactctccccatctccccccccctccccacccccaatt ttgtatttatttatttttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggcgcgcgccaggcgggg cggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggag aggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcggc cctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgc tgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgcc gcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgt tactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcc tccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggctc gtttcttttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggc tccgggagggccctttgtgcgggggagcggctcggg gggtgcgtgcgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcg tgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcg ggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcg

IL-2: 3392-3451 LC: 3452-4096 Codón de Terminación: 4097-4099 poli(A) de bGH: 4106-4329 ITR: 4339-4479		cgagaggagcgcggccgggggcggtgccacgcggtgc ggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcgggg gtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggtgtgggcg cggcggtcgggctgtaacccccccctgcacccccctc cccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggg gctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgccgtgccg ggcgggggggtggcggcgggtgggggtgccgggcgggg cggggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggg gcgcggcggcccccggagcgccggcggctgtcgaggc gcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgt gcgagagggcgcagggacttcctttgtcccaaatctg tgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcaccccc tctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggca ggaaggaaatgggcggggagggccttcgtgcgtcgcc gcgccgccgtccccttctccctctccagcctcggggc tgtccgcgggggggacggctgccttcgggggggacggg gcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcgg tctagactctgctaaccatgttcatgccttcttctct ttcctacagctcctgggcaacgtgctggttgttgtgc tgtctcatcattttggcaaagaattcaagcttccagc tagcgccaccatgcacagctccgccctgctctgctgt ttggtgcttctgacaggagtcagggctcaggttgagt tagtggaatctggaggggtgtagtgcaacctggcag atcacagaggctgagttgcgcagcaagtggattcaca tttagctcctatgggatgcattgggtccgccaggccc ctggcaagggtctagagtgggtggctatcatttggtt tgatggatcttcaacttattatgctgatagtgttaga gggcgctttactataagcagggacaactccaaaaata ccctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaaga tacagctgtgtacttctgtgctagggagctgggccgc agatattttgacctttggggcagaggaactcttgtct ctgtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtgtt cccgctggccccctcttccaaaagtacatcaggtggc accgcggctctgggatgcttggttaaggattactttc ctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggggcctt gacttctggggtgcacacattccccgcagtccttcag tccagcggtctgtattcattatccagtgtggttacag tgccttctagctccctgggaactcagacctacatctg taatgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggac aagaaagttgagcccaagtcttgtgataaaacccaca cttgtccgccttgcccagcccctgagctacttggggg cccttcagttttctgttcccacccaagcctaaagac acattgatgattagtaggactcctgaagtgacctgtg ttgtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaa gttcaattggtatgtggatggagttgaggtgcacaat

		gctaagactaaaccgagggaagagcagtataatagca catacagagttgtgtcagttctgacagtgcttcacca agactggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggta tctaataaggccctgcccgcacctattgaaaaaacta tttcaaaggctaaagggcagccaagggagccccaggt ctacaccctgcctccatccagagatgaattaacaaag aaccaggtgagtctcacttgcctggttaaaggttttt atccctctgatattgctgtggagtgggagtctaatgg ccaaccagaaaataactacaagaccacacctccagtc ttggactctgatggaagcttctttctttactcaaagc tgactgtggacaaaagtagatggcagcaggggaatgt gttcagctgttctgttatgcatgaggcgctacacaac cattatacccagaagtctctcagtctgtcacctggca aaagaaagagaaggagtggctcaggagcccctgtgaa acagaccctgaactttgacctcttgaagcttgctggg gatgtggagtctaatcctggtccaatgtacagaatgc agctgctcagctgcattgccttgtcccttgctctggt gaccaactctgagattgtcttaacacaatcacccgca actctgagtctaagtcctggagaaagagcaactctca gctgtagggcctcccagtctgtttcaagttatctggc ttggtaccagcaaaagccaggacaggccccgcgcttg ctgatatatgatgcaagcaaaagggccacagggatcc ccgctagattcagcggttctggcagcggaacagattt tactcttaccatttcctcacttgagcctgaagacttt gcagtgtactattgccagcagcggagtaagtggccac cctggacatttgggcaaggcaccaaagtagagagcaa gagaactgtggccgcgccttctgtcttcatctttcca ccctctgatgaacagctgaaatcaggtactgcttcag tggtttgtctgctcaataacttctacccaagggaggc caaggtgcagtggaaggttgacaatgcattgcagagc ggaaacagtcaagagtctgtaacagaacaggattcca aagacagcacctattcactttccagtactctgacctt atctaaggctgattatgagaaacacaaggtgtatgct tgtgaagttacacatcaggggctgagctcccctgtga ccaaaagctttaatagggggagtgttagcaattgct gtgccttctagttgccagccatctgttgtttgcccct cccccgtgccttccttgaccctggaaggtgccactcc cactgtcctttcctaataaaatgaggaaattgcatcg cattgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtg gggtggggcaggacagcaaggggaggattgggaaga caatagcaggcatgctggggatgcggtgggctctatg gagctcgagaggaacccctagtgatggagttggccac tccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccggg cgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccggg cggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagctgcagatc

		tg
(SEQ ID NO: 71) Completo: 4795 ITR: 1-130 Potenciador de CMV: 149-528 Promotor de CBA: 531-806 Intrón de CAG: 807-1870 Péptido señal IL-2: 1898-1957 LC: 1958-2602 Codón de Terminación: 2602-2605 IRES2: 2606-3190 Péptido señal IL-10: 3191-3245 HC: 3191-4594 Codón de Terminación: 4595-4597 Poli(A) sintético: 4597-4645 ITR: 4655-4795	EC #5 L-IRES-H	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatgggtcgaggtgagccccacgttctgctt cactctccccatctcccccccctccccacccccaatt ttgtatttatttatttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggcgcgcgccaggcgggg cggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggag aggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcgc cctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgc tgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgcc gcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgt tactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcc tccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggctc gtttcttttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggc tccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcggg gggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcg tgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcg ggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcg cgagaggagcgcggccgggggcggtgccacgcggtgc ggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggg gtgtgtgcgtgggggggggtgagcaggggggtgtgggcg cggcggtcgggctgtaacccccccctgcacccccctc cccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggg gctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgccgtgccg ggcgggggggtggcggcgggtgggggtgccgggcgggg cggggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggg gcgcggcggcccccggagcgccggcggctgtcgaggc gcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgt gcgagagggcgcagggacttcctttgtcccaaatctg tgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcacccccc tctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggca

		ggaaggaaatgggcggggagggccttcgtgcgtcgcc gcgccgccgtccccttctccctctccagcctcggggc tgtccgcgggggggacggctgccttcgggggggacgggg gcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcgg tctagactctgctaaccatgttcatgccttcttctct ttcctacagctcctgggcaacgtgctggttgttgtgc tgtctcatcattttggcaaagaattcaagcttccagc tagcgccaccatgtacagaatgcagctgctcagctgc attgccttgtcccttgctctggtgaccaactctgaga ttgtcttaacacaatcacccgcaactctgagtctaag tcctggagaaagagcaactctcagctgtagggcctcc cagtctgtttcaagttatctggcttggtaccagcaaa agccaggacaggccccgcgcttgctgatatatgatgc aagcaaaagggccacagggatccccgctagattcagc ggttctggcagcggaacagattttactcttaccattt cctcacttgagcctgaagactttgcagtgtactattg ccagcagcggagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggccg cgccttctgtcttcatctttccaccctctgatgaaca gctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctgctc aataacttctacccaagggaggccaaggtgcagtgga aggttgacaatgcattgcagagcggaaacagtcaaga gtctgtaacagaacaggattccaaagacagcacctat tcactttccagtactctgaccttatctaaggctgatt atgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaagttacaca tcaggggctgagctcccctgtgaccaaaagctttaat aggggggagtgttaggcccctctccctccccccccc taacgttactggccgaagccgcttggaataaggccgg tgtgcgtttgtctatatgttattttccaccatattgc cgtcttttggcaatgtgagggcccggaaacctggccc tgtcttcttgacgagcattcctaggggtctttcccct ctcgccaaaggaatgcaaggtctgttgaatgtcgtga aggaagcagttcctctggaagcttcttgaagacaaac aacgtctgtagcgacccttgcaggcagcggaacccc ccacctggcgacaggtgcctctgcggccaaaagccac gtgtataagatacacctgcaaaggcggcacaacccca gtgccacgttgtgagttggatagttgtggaaagagtc aaatggctctcctcaagcgtattcaacaaggggctga aggatgcccagaaggtaccccattgtatgggatctga tctggggcctcggtacacatgctttacatgtgtttag tcgaggttaaaaaaacgtctaggcccccgaaccacg gggacgtggttttcctttgaaaaacacgatgataata tggccacaatgcacagctccgccctgctctgctgttt ggtgcttctgacaggagtcagggctcaggttgagtta gtggaatctggaggggtgtagtgcaacctggcagat

		cacagaggctgagttgcgcagcaagtggattcacatt tagctcctatgggatgcattgggtccgccaggcccct ggcaagggtctagagtgggtggctatcatttggtttg atggatcttcaacttattatgctgatagtgttagagg gcgctttactataagcagggacaactccaaaaatacc ctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagata cagctgtgtacttctgtgctagggagctgggccgcag atattttgacctttggggcagaggaactcttgtctct gtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtgttcc cgctggccccctcttccaaaagtacatcaggtggcac cgcggctctgggatgcttggttaaggattactttcct gaaccagtgactgtcagctggaatagtggggccttga cttctggggtgcacacattccccgcagtccttcagtc cagcggtctgtattcattatccagtgtggttacagtg ccttctagctccctgggaactcagacctacatctgta atgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggacaa gaaagttgagcccaagtcttgtgataaaacccacact tgtccgccttgcccagcccctgagctacttgggggcc cttcagtttttctgttcccacccaagcctaaagacac attgatgattagtaggactcctgaagtgacctgtgtt gtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagt tcaattggtatgtggatggagttgaggtgcacaatgc taagactaaaccgagggaagagcagtataatagcaca tacagagttgtgtcagttctgacagtgcttcaccaag actggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggtatc taataaggccctgcccgcacctattgaaaaaactatt tcaaaggctaaagggcagccaagggagccccaggtct acaccctgcctccatccagagatgaattaacaaagaa ccaggtgagtctcacttgcctggttaaaggttttat ccctctgatattgctgtggagtgggagtctaatggcc aaccagaaaataactacaagaccacacctccagtctt ggactctgatggaagcttctttctttactcaaagctg actgtggacaaaagtagatggcagcaggggaatgtgt tcagctgttctgttatgcatgaggcgctacacaacca ttatacccagaagtctctcagtctgtcaccggcaaat agcaattgaataaaagatctttattttcattagatct gtgtgttggtttttgtgtggagctcgagaggaaccc ctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctc gctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccg acgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgag cgagcgcgcagctgcagatctg
(SEQ ID NO: 72) Completo: 4288	EC #6 Doble	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc

ITR: 1-130 Potenciador de CMV: 149-528 Promotor de CMV: 529-732 Intrón de SV40: 791-887 Péptido señal IL-2: 954-1013 LC: 1014-1658 Codón de Terminación: 1659-1661 poli(A) de bGH: 1668-1842 Sitio de pausa: 1857-1948 Promotor EF-1α: 1967-2196 LTR 5' (truncado): 2209-2477 Intrón quimérico de HGB/IgHC: 2504-2636 Péptido señal IL-10: 2686-2739 HC: 2740-4083		gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaat gggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaa gtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttg gcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaac aactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtg tacggtgggaggtctatataagcagagctcgtttagt gaaccgtcagatcgcctggagaaggaactgaaaaacc agaaagttaactggtaagtttagtcttttgtctttt atttcaggtcccggatccggtggtggtgcaaatcaaa gaactgctcctcagtggatgttgcctttacttctagg cctgtacggaagtgttacttctgctctaaaagctgcg gaattgtagcccggttaattaagccaccatgtacaga atgcagctgctcagctgcattgccttgtcccttgctc tggtgaccaactctgagattgtcttaacacaatcacc cgcaactctgagtctaagtcctggagaaagagcaact ctcagctgtagggcctcccagtctgtttcaagttatc tggcttggtaccagcaaaagccaggacaggccccgcg cttgctgatatatgatgcaagcaaaagggccacaggg atccccgctagattcagcggttctggcagcggaacag attttactcttaccatttcctcacttgagcctgaaga ctttgcagtgtactattgccagcagcggagtaagtgg ccaccctggacatttgggcaaggcaccaaagtagaga gcaagagaactgtggccgcgccttctgtcttcatctt tccaccctctgatgaacagctgaaatcaggtactgct tcagtggtttgtctgctcaataacttctacccaaggg aggccaaggtgcagtggaaggttgacaatgcattgca gagcggaaacagtcaagagtctgtaacagaacaggat tccaaagacagcacctattcactttccagtactctga ccttatctaaggctgattatgagaaacacaaggtgta tgcttgtgaagttacacatcaggggctgagctcccct gtgaccaaaagctttaatagggggggagtgttaggcat gcctgtgccttctagttgccagccatctgttgtttgc ccctcccccgtgccttccttgaccctggaaggtgcca ctcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaattgc atcgcattgtctgagtaggtgtcattctattctgggg

Codón de Terminación: 4084-4086 Poli(A) sintético: 4093-4141 ITR: 4148-4288		ggtggggtggggcaggacagcaagggggaggattctc agaactaacatacgctctccatcaaaacaaaacgaaa caaaacaaactagcaaaataggctgtccccagtgcaa gtgcaggtgccagaacatttctctatcgaaggatctg cgatcgctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcaca tcgcccacagtccccgagaagttgggggggagggtcg gcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggt aaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctt tttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcag tagtcgccgtgaacgttctttttcgcaacgggtttgc cgccagaacacagctgaagcttcgaggggctcgcatc tctccttcacgcgcccgccgccctacctgaggccgcc atccacgccggttgagtcgcgttctgccgcctcccgc ctgtggtgcctcctgaactgcgtccgccgtctaggta agtttaaagctcaggtcgagaccgggcctttgtccgg cgctcccttggagcctacctagactcagccggctctc cacgctttgcctgaccctgcttgctcaactctacgtc tttgtttcgttttctgttctgcgccgttacagatcga agttggtcgtgaggcactgggcaggtaagtatcaagg ttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactggg cttgtcgagacagagaagactcttgcgtttctgatag gcacctattggtcttactgacatccactttgcctttc tctccacaggtgtccactcccagttcaattacagctc ttaaggctagtttaaaccaccatgcacagctccgccc tgctctgctgtttggtgcttctgacaggagtcagggc tcaggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtg caacctggcagatcacagaggctgagttgcgcagcaa gtggattcacatttagctcctatgggatgcattgggt ccgccaggcccctggcaagggtctagagtgggtggct atcatttggtttgatggatcttcaacttattatgctg atagtgttagagggcgctttactataagcagggacaa ctccaaaaataccctctatctgcaaatgaactctttg agagcagaagatacagctgtgtacttctgtgctaggg agctgggccgcagatattttgacctttggggcagagg aactcttgtctctgtatcctcagcaagtaccaaggggg ccatctgtgttcccgctggccccctcttccaaaagta catcaggtggcaccgcggctctgggatgcttggttaa ggattactttcctgaaccagtgactgtcagctggaat agtggggccttgacttctggggtgcacacattccccg cagtccttcagtccagcggtctgtattcattatccag tgtggttacagtgccttctagctccctgggaactcag acctacatctgtaatgtaaatcataaaccaagcaaca caaaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtga taaaacccacacttgtccgccttgcccagcccctgag ctacttgggggcccttcagttttctgttcccaccca

		agcctaaagacacattgatgattagtaggactcctga agtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgaggac ccagaagtaaagttcaattggtatgtggatggagttg aggtgcacaatgctaagactaaaccgagggaagagca gtataatagcacatacagagttgtgtcagttctgaca gtgcttcaccaagactggctcaatggaaaggagtata aatgcaaggtatctaataaggccctgcccgcacctat tgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcagccaagg gagccccaggtctacaccctgcctccatccagagatg aattaacaaagaaccaggtgagtctcacttgcctggt taaaggttttatccctctgatattgctgtggagtgg gagtctaatggccaaccagaaaataactacaagacca cacctccagtcttggactctgatggaagcttctttct ttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggcag caggggaatgtgttcagctgttctgttatgcatgagg cgctacacaaccattatacccagaagtctctcagtct gtcacctggcaaatagcctaggaataaaagatcttta ttttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtgctc gagaggaacccctagtgatggagttggccactccctc tctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgacca aaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcct cagtgagcgagcgagcgcgcagctgcagatctg
(SEQ ID NO: 73) Completo: 4488 ITR: 1-130 Potenciador de CMV: 149-528 Promotor de CBA: 531-806 Intrón de CAG: 807-1870 Péptido señal IL-10: 1898-1951 HC: 1952-3295 Codón de	EC #7 H-F2A-L	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatgggtcgaggtgagccccacgttctgctt cactctccccatctcccccccctccccacccccaatt ttgtatttatttatttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggcgcgcgccaggcgggg cggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggag aggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcggc cctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgc tgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgcc

Terminación: 3296-3298 Furina: 3305-3316 Enlazador: 3317-3328 F2A: 3329-3400 Péptido señal IL-2: 3401-3460 LC: 3461-4105 Codón de Terminación: 4106-4108 poli(A) de bGH: 4115-4338 ITR: 4348-4488		gcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgt tactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcc tccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggctc gtttcttttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggc tccgggagggccctttgtgcgggggagcggctcggg gggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcg tgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcg ggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcg cgagaggagcgcggccgggggcggtgccacgcggtgc ggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggg gtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggtgtgggcg cggcggtcgggctgtaacccccccctgcacccccctc cccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggg gctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgccgtgccg ggcgggggggtggcggcgggtgggggtgccgggcgggg cggggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggg gcgcggcggcccccggagcgccggcggctgtcgaggc gcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgt gcgagagggcgcagggacttcctttgtcccaaatctg tgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcaccccc tctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggca ggaaggaaatgggcggggagggccttcgtgcgtcgcc gcgccgccgtcccttctccctctccagcctcggggc tgtccgcgggggggacggctgccttcgggggggacggg gcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcgg tctagactctgctaaccatgttcatgccttcttctct ttcctacagctcctgggcaacgtgctggttgttgtgc tgtctcatcattttggcaaagaattcaagcttccagc tagcgccaccatgcacagctctgccctgctctgctgt ttggtgcttctgacaggagtcagggctcaggttgagt tagtggaatctggaggggtgtagtgcaacctggcag atcacagaggctgagttgtgcagcaagtggattcaca tttagctcctatgggatgcattgggtcagacaggccc ctggcaagggtctagagtgggtggctatcatttggtt tgatggatcttcaacttattatgctgatagtgttagg gggagatttactataagcagggacaactccaaaaata ccctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaaga tacagctgtgtacttctgtgctagggagctgggcaga aggtattttgacctttggggcagaggaactcttgtct ctgtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtgtt cccactggccccctcttccaaaagtacatcaggtggc acagcagctctgggatgcttggttaaggattactttc ctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggggcctt gacttctggggtgcacacattccctgcagtccttcag tcctctggtctgtattcattatccagtgtggttacag

		tgccttctagctccctgggaactcagacctacatctg taatgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggac aagaaagttgagcccaagtcttgtgataaaacccaca cttgtccaccttgcccagcccctgagctacttggggg cccttcagtttttctgttcccacccaagcctaaagac acattgatgattagtaggactcctgaagtgacctgtg ttgtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaa gttcaattggtatgtggatggagttgaggtgcacaat gctaagactaaaccaagagaagagcagtataatagca catacagggttgtgtcagttctgacagtgcttcacca agactggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggta tctaataaggccctgcctgcacctattgaaaaaacta tttcaaaggctaaagggcagccaagagagccccaggt ctacaccctgcctccatccagggatgaattaacaaag aaccaggtgagtctcacttgcctggttaaaggttttt atccctctgatattgctgtggagtgggagtctaatgg ccaaccagaaaataactacaagaccacacctccagtc ttggactctgatggaagcttctttctttactcaaagc tgactgtggacaaaagtagatggcagcaggggaatgt gttcagctgttctgttatgcatgaggcactacacaac cattatacccagaagtctctcagtctgtcacctggca aatagggcaaaagaaagagaaggagtggctcaggagc ccctgtgaaacagaccctgaactttgacctcttgaag cttgctggggatgtggagtctaatcctggtccaatgt acagaatgcagctgctcagctgcattgccttgtccct tgctctggtgaccaactctgagattgtcttaacacaa tcacctgcaactctgagtctaagtcctggagaaagag caactctcagctgtagggcctcccagtctgtttcaag ttatctggcttggtaccagcaaaagccaggacaggcc ccaaggttgctgatatatgatgcaagcaaaagagcca cagggatccctgctaggttctctggttctggctctgg aacagattttactcttaccatttcctcacttgagcct gaagactttgcagtgtactattgccagcagagaagta agtggccaccctggacatttgggcaaggcaccaaagt agagagcaagagaactgtggctgcaccttctgtcttc atctttccaccctctgatgaacagctgaaatcaggta ctgcttcagtggtttgtctgctcaataacttctaccc aagggaggccaaggtgcagtggaaggttgacaatgca ttgcagtctggaaacagtcaagagtctgtaacagaac aggattccaaagacagcacctattcactttccagtac tctgaccttatctaaggctgattatgagaaacacaag gtgtatgcttgtgaagttacacatcaggggctgagct cccctgtgaccaaaagctttaatagggggggagtgtta gcaattgctgtgccttctagttgccagccatctgttg tttgcccctcccccgtgccttccttgaccctggaagg

		tgccactcccactgtcctttcctaataaaatgaggaa attgcatcgcattgtctgagtaggtgtcattctattc tgggggggtggggtggggcaggacagcaaggggaggga ttgggaagacaatagcaggcatgctggggatgcggtg ggctctatggagctcgagaggaacccctagtgatgga gttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcact gaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggct ttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcgcag ctgcagatctg
(SEQ ID NO: 74) Completo:4796 ITR: 1-130 Potenciador de CMV: 149-528 Promotor de CBA: 531-806 Intrón de CAG: 807-1870 Péptido señal IL-2: 1898-1957 LC: 1958-2602 Codón de Terminación: 2603-2605 IRES2: 2606-3190 Péptido señal IL-10: 3191-3244 HC: 3245-4588 Codón de	EC #8 LC-IRES-HC	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatgggtcgaggtgagccccacgttctgctt cactctccccatctccccccccctccccaccccaatt ttgtatttatttatttttttaattattttgtgcagcga tgggggcgggggggggggggcgcgcgccaggcgggg cggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggag aggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcggc cctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgc tgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgcc gcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgt tactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcc tccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggctc gtttcttttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggc tccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcggg gggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcg tgcggctccgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcg ggcgcggcgcggggctttgtgcgctccgcagtgtgcg cgagaggagcgcggccgggggcggtgccacgcggtgc ggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggg gtgtgtgcgtgggggggggtgagcaggggggtgtgggcg cggcggtcgggctgtaacccccccctgcacccccctc cccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcggg

Terminación: 4589-4591 Poli(A) sintético: 4598-4646 ITR: 4656-4796		gctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgccgtgccg ggcgggggtggcggcgggtgggggtgccgggcgggg cggggccgcctcgggccggggagggctcgggggaggg gcgcggcggcccccggagcgccggcggctgtcgaggc gcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgt gcgagagggcgcagggacttcctttgtcccaaatctg tgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcacccccc tctagcgggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggca ggaaggaaatgggcggggagggccttcgtgcgtcgcc gcgccgccgtccccttctccctctccagcctcggggc tgtccgcgggggacggctgccttcgggggggacggg gcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcgg tctagactctgctaaccatgttcatgccttcttctct ttcctacagctcctgggcaacgtgctggttgttgtgc tgtctcatcattttggcaaagaattcaagcttccagc tagcgccaccatgtacagaatgcagctgctcagctgc attgccttgtcccttgctctggtgaccaactctgaga ttgtcttaacacaatcacctgcaactctgagtctaag tcctggagaaagagcaactctcagctgtagggcctcc cagtctgtttcaagttatctggcttggtaccagcaaa agccaggacaggccccaaggttgctgatatatgatgc aagcaaaagagccacagggatccctgctaggttctct ggttctggctctggaacagattttactcttaccattt cctcacttgagcctgaagactttgcagtgtactattg ccagcagagaagtaagtggccaccctggacatttggg caaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtggctg caccttctgtcttcatctttccaccctctgatgaaca gctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctgctc aataacttctacccaagggaggccaaggtgcagtgga aggttgacaatgcattgcagtctggaaacagtcaaga gtctgtaacagaacaggattccaaagacagcacctat tcactttccagtactctgaccttatctaaggctgatt atgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaagttacaca tcaggggctgagctcccctgtgaccaaaagctttaat agggggggagtgttaggcccctctccctccccccccc taacgttactggccgaagccgcttggaataaggccgg tgtgcgtttgtctatatgttattttccaccatattgc cgtcttttggcaatgtgagggcccggaaacctggccc tgtcttcttgacgagcattcctaggggtctttcccct ctcgccaaaggaatgcaaggtctgttgaatgtcgtga aggaagcagttcctctggaagcttcttgaagacaaac aacgtctgtagcgacccttgcaggcagcggaacccc ccacctggcgacaggtgcctctgcggccaaaagccac gtgtataagatacacctgcaaaggcggcacaacccca gtgccacgttgtgagttggatagttgtggaaagagtc

		aaatggctctcctcaagcgtattcaacaaggggctga aggatgcccagaaggtaccccattgtatgggatctga tctggggcctcggtacacatgctttacatgtgtttag tcgaggttaaaaaaacgtctaggccccccgaaccacg gggacgtggttttcctttgaaaaacacgatgataata tggccacaatgcacagctctgccctgctctgctgttt ggtgcttctgacaggagtcagggctcaggttgagtta gtggaatctggaggggtgtagtgcaacctggcagat cacagaggctgagttgtgcagcaagtggattcacatt tagctcctatgggatgcattgggtcagacaggcccct ggcaagggtctagagtgggtggctatcatttggtttg atggatcttcaacttattatgctgatagtgttagggg gagatttactataagcagggacaactccaaaaatacc ctctatctgcaaatgaactctttgagagcagaagata cagctgtgtacttctgtgctagggagctgggcagaag gtattttgacctttggggcagaggaactcttgtctct gtatcctcagcaagtaccaaggggccatctgtgttcc cactggccccctcttccaaaagtacatcaggtggcac agcagctctgggatgcttggttaaggattactttcct gaaccagtgactgtcagctggaatagtggggccttga cttctggggtgcacacattccctgcagtccttcagtc ctctggtctgtattcattatccagtgtggttacagtg ccttctagctccctgggaactcagacctacatctgta atgtaaatcataaaccaagcaacacaaaggtggacaa gaaagttgagcccaagtcttgtgataaaacccacact tgtccaccttgcccagcccctgagctacttgggggcc cttcagtttttctgttcccacccaagcctaaagacac attgatgattagtaggactcctgaagtgacctgtgtt gtggtggatgtttcccatgaggacccagaagtaaagt tcaattggtatgtggatggagttgaggtgcacaatgc taagactaaaccaagagaagagcagtataatagcaca tacagggttgtgtcagttctgacagtgcttcaccaag actggctcaatggaaaggagtataaatgcaaggtatc taataaggccctgcctgcacctattgaaaaaactatt tcaaaggctaaagggcagccaagagagccccaggtct acaccctgcctccatccagggatgaattaacaaagaa ccaggtgagtctcacttgcctggttaaaggttttat ccctctgatattgctgtggagtgggagtctaatggcc aaccagaaaataactacaagaccacacctccagtctt ggactctgatggaagcttctttctttactcaaagctg actgtggacaaaagtagatggcagcaggggaatgtgt tcagctgttctgttatgcatgaggcactacacaacca ttatacccagaagtctctcagtctgtcacctggcaaa tagcaattgaataaaagatctttattttcattagatc tgtgtgttggtttttgtgtggagctcgagaggaacc

		cctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgct cgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgccc gacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcga gcgagcgcgcagctgcagatctg
(SEQ ID NO: 75) Completo: 4288 ITR: 1-130 Potenciador de CMV: 149-528 Promotor de CMV: 529-732 Intrón de SV40: 791-887 Péptido señal IL-2: 960-1013 LC: 1014-1658 Codón de Terminación: 1659-1661 poli(A) de bGH: 1668-1842 Sitio de pausa: 1857-1948 EF-1α Promotor: 1967-2196 LTR 5' (truncado): 2209-2477 Intrón	EC #9 Doble	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaa agcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcctc agtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaac tccatcactaggggttccttagtattaaacgcgtgtc gacattgattattgactagttattaatagtaatcaat tacggggtcattagttcatagcccatatatggagttc cgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggct gaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataat gacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttc cattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactg cccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaag tacgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccc gcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggact ttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgc tattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaat gggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaa gtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttg gcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaac aactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtg tacggtgggaggtctatataagcagagctcgtttagt gaaccgtcagatcgcctggagaaggaactgaaaaacc agaaagttaactggtaagtttagtctttttgtctttt atttcaggtcccggatccggtggtggtgcaaatcaaa gaactgctcctcagtggatgttgcctttacttctagg cctgtacggaagtgttacttctgctctaaaagctgcg gaattgtagcccggttaattaagccaccatgtacaga atgcagctgctcagctgcattgccttgtcccttgctc tggtgaccaactctgagattgtcttaacacaatcacc tgcaactctgagtctaagtcctggagaaagagcaact ctcagctgtagggcctcccagtctgtttcaagttatc tggcttggtaccagcaaaagccaggacaggccccaag gttgctgatatatgatgcaagcaaaagagccacaggg atccctgctaggttctctggttctggctctggaacag attttactcttaccatttcctcacttgagcctgaaga ctttgcagtgtactattgccagcagagaagtaagtgg ccaccctggacatttgggcaaggcaccaaagtagaga gcaagagaactgtggctgcaccttctgtcttcatctt tccaccctctgatgaacagctgaaatcaggtactgct tcagtggtttgtctgctcaataacttctacccaaggg aggccaaggtgcagtggaaggttgacaatgcattgca gtctggaaacagtcaagagtctgtaacagaacaggat

quimérico de HBG/IgHC: 2504-2636 Péptido señal IL-10: 2686-2739 HC: 2740-4083 Codón de Terminación: 4084-4086 Poli(A) sintético: 4093-4141 ITR: 4148-4288		tccaaagacagcacctattcactttccagtactctga ccttatctaaggctgattatgagaaacacaaggtgta tgcttgtgaagttacacatcaggggctgagctcccct gtgaccaaaagctttaatagggggagtgttaggcat gcctgtgccttctagttgccagccatctgttgtttgc ccctcccccgtgccttccttgaccctggaaggtgcca ctcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaattgc atcgcattgtctgagtaggtgtcattctattctgggg ggtggggtggggcaggacagcaagggggaggattctc agaactaacatacgctctccatcaaaacaaaacgaaa caaaacaaactagcaaaataggctgtccccagtgcaa gtgcaggtgccagaacatttctctatcgaaggatctg cgatcgctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcaca tcgcccacagtccccgagaagttgggggggagggtcg gcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggt aaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctt tttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcag tagtcgccgtgaacgttctttttcgcaacgggtttgc cgccagaacacagctgaagcttcgaggggctcgcatc tctccttcacgcgcccgccgccctacctgaggccgcc atccacgccggttgagtcgcgttctgccgcctcccgc ctgtggtgcctcctgaactgcgtccgccgtctaggta agtttaaagctcaggtcgagaccgggcctttgtccgg cgctcccttggagcctacctagactcagccggctctc cacgctttgcctgaccctgcttgctcaactctacgtc tttgtttcgttttctgttctgcgccgttacagatcga agttggtcgtgaggcactgggcaggtaagtatcaagg ttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactggg cttgtcgagacagagaagactcttgcgtttctgatag gcacctattggtcttactgacatccactttgcctttc tctccacaggtgtccactcccagttcaattacagctc ttaaggctagtttaaaccaccatgcacagctctgccc tgctctgctgtttggtgcttctgacaggagtcagggc tcaggttgagttagtggaatctggaggggtgtagtg caacctggcagatcacagaggctgagttgtgcagcaa gtggattcacatttagctcctatgggatgcattgggt cagacaggcccctggcaagggtctagagtgggtggct atcatttggtttgatggatcttcaacttattatgctg atagtgttaggggagatttactataagcagggacaa ctccaaaaataccctctatctgcaaatgaactctttg agagcagaagatacagctgtgtacttctgtgctaggg agctgggcagaaggtattttgacctttggggcagagg aactcttgtctctgtatcctcagcaagtaccaagggg ccatctgtgttcccactggccccctcttccaaaagta catcaggtggcacagcagctctgggatgcttggttaa

		ggattactttcctgaaccagtgactgtcagctggaat agtggggccttgacttctggggtgcacacattccctg cagtccttcagtcctctggtctgtattcattatccag tgtggttacagtgccttctagctccctgggaactcag acctacatctgtaatgtaaatcataaaccaagcaaca caaaggtggacaagaaagttgagcccaagtcttgtga taaaacccacacttgtccaccttgcccagcccctgag ctacttgggggcccttcagtttttctgttcccaccca agcctaaagacacattgatgattagtaggactcctga agtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgaggac ccagaagtaaagttcaattggtatgtggatggagttg aggtgcacaatgctaagactaaaccaagagaagagca gtataatagcacatacagggttgtgtcagttctgaca gtgcttcaccaagactggctcaatggaaaggagtata aatgcaaggtatctaataaggccctgcctgcacctat tgaaaaaactatttcaaaggctaaagggcagccaaga gagccccaggtctacaccctgcctccatccagggatg aattaacaaagaaccaggtgagtctcacttgcctggt taaaggttttatccctctgatattgctgtggagtgg gagtctaatggccaaccagaaaataactacaagacca cacctccagtcttggactctgatggaagcttctttct ttactcaaagctgactgtggacaaaagtagatggcag caggggaatgtgttcagctgttctgttatgcatgagg cactacacaaccattatacccagaagtctctcagtct gtcacctggcaaatagcctaggaataaaagatcttta ttttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtgctc gagaggaacccctagtgatggagttggccactccctc tctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgacca aaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcct cagtgagcgagcgagcgcgcagctgcagatctg
SEQ ID NO: 142 smCBA.Teprotumumab Completo: 3728 ITR 5': 1-141 (SEQ ID NO: 143) Promotor smCBA: 163-1104 (SEQ ID NO:	EC #10	cagatctgcagctgcgcgctcgctcgctcactgaggc cgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggt cgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagg gagtggccaactccatcactaggggttccttagtatt aaacgcgtgtcgacctagttattaatagtaatcaatt acggggtcattagttcatagcccatatatggagttcc gcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctg accgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatg acgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttcc attgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactgc ccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagt acgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccg cctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactt tcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgct attaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttca

145) Péptido señal IL-10: 1147-1200 HC: 1201-2544 Furina: 2545-2556 Enlazador: 2557-2568 F2A: 2569-2640 Péptido señal IL-2: 2641-2700 LC: 2701-3345 Codón de Terminación: 3346-3348 poli(A) de bGH: 3355-3578 ITR 3': 3588-3728 (SEQ ID NO: 144)		ctctccccatctcccccccctccccaccccaatttt gtatttatttatttttaattattttgtgcagcgatg ggggcgggggggggggggggcgcgcgccaggcgggg cggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggag aggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcggc cctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgc tgcgacgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgc cgcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcg ttactcccacaggtgagcgggcgggacggcccttctc ctccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggct tgtttcttttctgtggctgcgtgaaagccttgagggg ctccgggagctagagcctctgctaaccatgttcatgc cttcttcttttttcctacagctcctgggcaacgtgctg gttattgtgctgtctcatcattttggcaaagcggccg caagcttgaattcatttaaatccagctagcgccacca tgcacagctccgccctgctctgctgtttggtgcttct gacaggagtcagggctcaggttgagttagtggaatct ggaggggtgtagtgcaacctggcagatcacagaggc tgagttgcgcagcaagtggattcacatttagctccta tgggatgcattgggtccgccaggcccctggcaagggt ctagagtgggtggctatcatttggtttgatggatctt caacttattatgctgatagtgttagagggcgctttac tataagcagggacaactccaaaaataccctctatctg caaatgaactctttgagagcagaagatacagctgtgt acttctgtgctagggagctgggccgcagatattttga cctttggggcagaggaactcttgtctctgtatcctca gcaagtaccaaggggccatctgtgttcccgctggccc cctcttccaaaagtacatcaggtggcaccgcggctct gggatgcttggttaaggattactttcctgaaccagtg actgtcagctggaatagtggggccttgacttctgggg tgcacacattccccgcagtccttcagtccagcggtct gtattcattatccagtgtggttacagtgccttctagc tccctgggaactcagacctacatctgtaatgtaaatc ataaaccaagcaacacaaaggtggacaagaaagttga gcccaagtcttgtgataaaacccacacttgtccgcct tgcccagcccctgagctacttgggggcccttcagttt ttctgttcccacccaagcctaaagacacattgatgat tagtaggactcctgaagtgacctgtgttgtggtggat gtttcccatgaggacccagaagtaaagttcaattggt atgtggatggagttgaggtgcacaatgctaagactaa accgagggaagagcagtataatagcacatacagagtt gtgtcagttctgacagtgcttcaccaagactggctca atggaaaggagtataaatgcaaggtatctaataaggc cctgcccgcacctattgaaaaaactatttcaaaggct

		aaagggcagccaagggagccccaggtctacaccctgc ctccatccagagatgaattaacaaagaaccaggtgag tctcacttgcctggttaaaggttttttatccctctgat attgctgtggagtgggagtctaatggccaaccagaaa ataactacaagaccacacctccagtcttggactctga tggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggac aaaagtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgtt ctgttatgcatgaggcgctacacaaccattatacccca gaagtctctcagtctgtcacctggcaaaagaaagaga aggagtggctcaggagcccctgtgaaacagaccctga actttgacctcttgaagcttgctggggatgtggagtc taatcctggtccaatgtacagaatgcagctgctcagc tgcattgccttgtcccttgctctggtgaccaactctg agattgtcttaacacaatcacccgcaactctgagtct aagtcctggagaaagagcaactctcagctgtagggcc tcccagtctgtttcaagttatctggcttggtaccagc aaaagccaggacaggccccgcgcttgctgatatatga tgcaagcaaaagggccacagggatccccgctagattc agcggttctggcagcggaacagattttactcttacca tttcctcacttgagcctgaagactttgcagtgtacta ttgccagcagcggagtaagtggccaccctggacattt gggcaaggcaccaaagtagagagcaagagaactgtgg ccgcgccttctgtcttcatctttccaccctctgatga acagctgaaatcaggtactgcttcagtggtttgtctg ctcaataacttctacccaagggaggccaaggtgcagt ggaaggttgacaatgcattgcagagcggaaacagtca agagtctgtaacagaacaggattccaaagacagcacc tattcactttccagtactctgaccttatctaaggctg attatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaagttac acatcaggggctgagctcccctgtgaccaaaagcttt aataggggggagtgttagcaattgctgtgccttctag ttgccagccatctgttgtttgcccctcccccgtgcct tccttgaccctggaaggtgccactcccactgtccttt cctaataaaatgaggaaattgcatcgcattgtctgag taggtgtcattctattctgggggggtggggtggggcag gacagcaaggggaggattgggaagacaatagcaggc atgctggggatgcggtgggctctatggagctcgagag gaacccctagtgatggagttggccactccctctctgc gcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggt cgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtg agcgagcgagcgcgcagctgcagatctg

IV.A.2 Anticuerpos anti-IL-6 y anti-Receptor de IL-6

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a

polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpos), vectores, partículas de rAAV o composiciones que comprenden el ácido nucleico que codifica anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales) y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen específicamente a interleucina-6 (IL-6) o receptor de interleucina-6 (IL-6R).

En algunos aspectos, el anticuerpo codificado es un anticuerpo anti-IL-6 (anti-IL-6). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6 codificado comprende la secuencia de aminoácidos de Tocilizumab, Siltuximab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab, Levilimab, TOUR006 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo codificado es un anticuerpo anti-IL-6-R (anti-IL-6R). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6-R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de Sarilumab, Satralizumab o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, la descripción se refiere a polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción que comprenden un promotor unido operativamente a un ácido nucleico que codifica para una inmunoglobulina, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-6 o IL-6R.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por

ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción usadas en los métodos descritos en la presente codifican un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión al antígeno de los mismos) que tiene las secuencias de CDR y/o región variable de anticuerpos que tienen al menos 80% de identidad (por ejemplo, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad) con sus secuencias de CDR o región variable de Tocilizumab, Siltuximab, Sarilumab, Satralizumab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab, Levilimab, TOUR006. En algunos aspectos, la construcción de terapia génica que codifica para un anticuerpo anti-IL-6 o un anticuerpo anti-IL-6R es una construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) (por ejemplo, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera). En algunos aspectos, la construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) comprende además un elemento F2A o IRES.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones descritas en la presente comprenden un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo

que comprende una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo anti-IL-6, un anticuerpo anti-IL-6R o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6 o anticuerpo anti-IL-6R comprende una cadena pesada y una cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos de cadena pesada correspondiente a cualquiera de SEQ ID NO: 94, 103 o 104 (o la secuencia de aminoácidos de HC en la Tabla 17). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos de cadena ligera correspondiente a cualquiera de SEQ ID NO: 99, 109 o 110 (o la secuencia de aminoácidos de LC en la Tabla 17).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6 o anticuerpo anti-IL-6R comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO: 95 u 105 (o la secuencia de aminoácidos de VH en la Tabla 17). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera correspondiente a SEQ ID NO: 100 u 111 (o la secuencia de aminoácidos de VL en la Tabla 17).

En algunos aspectos, la cadena pesada comprende una

región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y una CDR3 de VH. En algunos aspectos, las CDR de VH 1-3 corresponden a las CDR de Tocilizumab, Siltuximab, Sarilumab, Satralizumab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab o Levilimab. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 96 (o una secuencia codificante de CDR1 de VH descrita en la Tabla 17; la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 97 (o una secuencia codificante de CDR2 de VH descrita en la Tabla 17; y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 98 (o una secuencia codificante de CDR3 de VH descrita en la Tabla 17.

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 106 (o una secuencia codificante de CDR1 de VH descrita en la Tabla 17; la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 107 (o una secuencia codificante de CDR2 de VH descrita en la Tabla 17; y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 108 (o una secuencia codificante de CDR3 de VH descrita en la Tabla 17.

En algunos aspectos, la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VL 1-3 corresponden a las CDR de Tocilizumab, Siltuximab, Sarilumab, Satralizumab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab o Levilimab. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 101 (o una secuencia codificante de CDR1 de VL descrita en la Tabla 17; la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VL correspondiente a los aminoácidos YTS (o una secuencia codificante de CDR2 de VL descrita en la Tabla 17); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 102 (o una secuencia codificante de CDR3 de VL descrita en la Tabla 17).

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 112 (o una secuencia codificante de CDR1 de VL descrita en la Tabla 17; la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 113 (o una secuencia codificante de CDR2 de VL descrita en la Tabla 17); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3

de VL correspondiente a SEQ ID NO: 114 (o una secuencia codificante de CDR3 de VL descrita en la Tabla 17).

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo de dominio individual (por ejemplo, un nanocuerpo) que comprende (i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y/o una CDR3 de VH o (ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una CDR1, una CDR2 de VL y/o una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VH y/o CDR de VL codificadas se seleccionan de las CDR correspondientes de Tocilizumab, Siltuximab, Sarilumab, Satralizumab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab o Levilimab.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica la secuencia de aminoácidos de Tocilizumab, Siltuximab, Sarilumab, Satralizumab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab, Levilimab, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR listadas en la Tabla 17.

Tabla 17 – Secuencias de Anticuerpos Anti-IL-6 y Receptor de Anti-IL-6

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia**
Tocilizumab de HC (SEQ ID NO: 94)	QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPG RGLEWIGYISYSGITTYNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLRLSSV TAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
Tocilizumab de VH (SEQ ID NO: 95)	QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPG RGLEWIGYISYSGITTYNPSLKSRVTMLRDTSKNQFSLRLSSV TAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGSLVTVSS
Tocilizumab de VH - CDR1 (SEQ ID NO: 96)	GYSITSDHA
Tocilizumab de VH - CDR2 (SEQ ID NO: 97)	ISYSGIT
Tocilizumab de VH - CDR3 (SEQ ID NO: 98)	ARSLARTTAMDY
Tocilizumab de LC (SEQ ID NO: 99)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATY YCQQGNTLPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Tocilizumab de VL (SEQ ID NO: 100)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATY YCQQGNTLPYTFGQGTKVEIK
Tocilizumab de VL - CDR1 (SEQ ID NO: 101)	QDISSY
Tocilizumab de VL - CDR2	YTS
Tocilizumab de VL - CDR3 (SEQ ID NO: 102)	QQGNTLPY
TOUR006 HC - IgG1 (SEQ ID NO: 103)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAIYGGSFREYYWSWIRQPPGK GLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVNISVDTSKNQFSLKLTSVT AADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
TOUR006 HC - IgG2 (SEQ ID NO: 104)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAIYGGSFREYYWSWIRQPPGK GLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVNISVDTSKNQFSLKLTSVT AADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE RKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVL TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
TOUR006 VH (SEQ ID NO: 105)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAIYGGSFREYYWSWIRQPPGK GLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSS

TOUR006 VH - CDR1 (SEQ ID NO: 106)	EYYWS
TOUR006 VH - CDR2 (SEQ ID NO: 107)	EIFHSGSTNYNPSLKS
TOUR006 VH - CDR3 (SEQ ID NO: 108)	EELDDFDI
TOUR006 LC - IgG1 (SEQ ID NO: 109)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKA PKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQYKSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
TOUR006 LC - IgG2 (SEQ ID NO: 110)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKA PKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQYKSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
TOUR006 VL (SEQ ID NO: 111)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKA PKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQYKSYPRTFGQGTKVEIK
TOUR006 VL - CDR1 (SEQ ID NO: 112)	RASQGISSWLA
TOUR006 VL - CDR2 (SEQ ID NO: 113)	AASSLQS
TOUR006 VL - CDR3 (SEQ ID NO: 114)	QQYKSYPRT

IV.A.3 Anticuerpos anti-IL-11 y anti-Receptor de IL-11

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpos), vectores, partículas de rAAV o composiciones que comprenden el ácido nucleico que codifica anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales) y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen específicamente a interleucina-11 (IL-11) o receptor de interleucina-11 (IL-11R).

En algunos aspectos, el anticuerpo codificado es un anticuerpo anti-IL-11 (anti-IL-11). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11 codificado comprende la secuencia de aminoácidos de 9MW3811 o fragmentos, variantes o derivados de la misma.

En algunos aspectos, el anticuerpo codificado es un anticuerpo anti-receptor de IL-11 (anti-IL-11R). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de BI 765423, LASN01 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, la descripción se refiere a polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción que comprenden un promotor unido operativamente a un ácido nucleico que codifica para una

inmunoglobulina, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-11 o IL-11R.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción usadas en los métodos descritos en la presente codifican un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión al antígeno de los mismos) que tiene las secuencias de CDR y/o región variable de teprotumumab o anticuerpos que tienen al menos 80% de identidad (por ejemplo, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad) con sus secuencias de CDR o región variable de BI 765423, 9MW3811 o LASN01. En algunos aspectos, la construcción de terapia génica que codifica para un anticuerpo anti-IL-11 es una construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) (por ejemplo, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera). En algunos aspectos, la construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) comprende además un elemento F2A o IRES.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones descritas en la presente

comprenden un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que comprende una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo anti-IL-11, un anticuerpo anti-IL-11R o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11 o anticuerpo anti-IL-11R comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO: 115 (o la secuencia de aminoácidos de VH en la Tabla 18). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera correspondiente a SEQ ID NO: 119 (o la secuencia de aminoácidos de VL en la Tabla 18).

En algunos aspectos, la cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y una CDR3 de VH. En algunos aspectos, las CDR de VH 1-3 corresponden a las CDR de BI 765423, 9MW3811 o LASN01. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 116 (o una secuencia codificante de CDR1 de VH descrita en la Tabla 18); la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VH

correspondiente a SEQ ID NO: 117 (o una secuencia codificante de CDR2 de VH descrita en la Tabla 18; y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 118 (o una secuencia codificante de CDR3 de VH descrita en la Tabla 18).

En algunos aspectos, la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VL 1-3 corresponden a las CDR de BI 765423, 9MW3811 o LASN01. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 120 (o una secuencia codificante de CDR1 de VL descrita en la Tabla 18); la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 121 (o una secuencia codificante de CDR2 de VL descrita en la Tabla 18); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 122 (o una secuencia codificante de CDR3 de VL descrita en la Tabla 18).

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo de dominio individual (por ejemplo, un nanocuerpo) que comprende (i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y/o una CDR3 de

VH o (ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una CDR1, una CDR2 de VL y/o una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VH y/o CDR de VL codificadas se seleccionan de las CDR correspondientes de BI 765423, 9MW3811 o LASN01.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica la secuencia de aminoácidos de BI 765423, 9MW3811, LASN01, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR listadas en la Tabla 18.

Tabla 18 – Secuencias de Anticuerpos anti-IL-11 y anti-Receptor de IL-11

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia**
LASN01 VH (SEQ ID NO: 115)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMTWVRQAP GKGLEWVSSIVPYGDLTQYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGPGWGSFDLWGRGTLVTVSS
LASN01 VH - CDR1 (SEQ ID NO: 116)	WYSMT
LASN01 VH - CDR2 (SEQ ID NO: 117)	SIVPYGDLTQYADSVKG
LASN01 VH - CDR3 (SEQ ID NO: 118)	GPGWGSFDL
LASN01 VL (SEQ ID NO: 119)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDINNYLNWYQQKPG KAPKLLIYDASNLQTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPED IATYYCQQHESQSPTFGPGTKVDIK

LASN01 VL - CDR1 (SEQ ID NO: 120)	QASQDINNYLN
LASN01 VL - CDR2 (SEQ ID NO: 121)	DASNLQT
LASN01 VL - CDR3 (SEQ ID NO: 122)	QQHESQSPT

IV.A.4 Anticuerpos anti-FcRn

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpos), vectores, partículas de rAAV o composiciones que comprenden el ácido nucleico que codifica anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales) y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen específicamente al receptor Fc neonatal (FcRn). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-FcRn codificado comprende la secuencia de aminoácidos de Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab, IMVT-1402 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, la descripción se refiere a polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción que comprenden un promotor unido operativamente a un ácido nucleico que codifica para una inmunoglobulina, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a FcRn.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción usadas en los métodos descritos en la presente codifican un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión al antígeno de los mismos) que tiene las secuencias de CDR y/o región variable de teprotumumab o anticuerpos que tienen al menos 80% de identidad (por ejemplo, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad) con sus secuencias de la región variable o CDR de Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab o IMVT-1402. En algunos aspectos, la construcción de terapia génica que codifica para un anticuerpo anti-FcRn es una construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) (por ejemplo, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera). En algunos aspectos, la construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) comprende además un elemento F2A o IRES.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones descritas en la presente

comprenden un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que comprende una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-FcRn comprende una cadena pesada y una cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO: 123 u 132 (o la secuencia de aminoácidos de HC en la Tabla 19). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos de cadena ligera correspondiente a SEQ ID NO: 128 u 137 (o la secuencia de aminoácidos de LC en la Tabla 19).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-FcRn comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO: 124 u 133 (o la secuencia de aminoácidos de VH en la Tabla 19). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera correspondiente a SEQ ID NO: 129 u 138 (o la secuencia de aminoácidos de VL en la Tabla 19).

En algunos aspectos, la cadena pesada comprende una

región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y una CDR3 de VH. En algunos aspectos, las CDR de VH 1-3 corresponden a las CDR de Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab o IMVT-1402. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 125 (o una secuencia codificante de CDR1 de VH descrita en la Tabla 19); la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 126 (o una secuencia codificante de CDR2 de VH descrita en la Tabla 19); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 127 (o una secuencia codificante de CDR3 de VH descrita en la Tabla 19).

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 134 (o una secuencia codificante de CDR1 de VH descrita en la Tabla 19); la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 135 (o una secuencia codificante de CDR2 de VH descrita en la Tabla 19); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VH correspondiente a

SEQ ID NO: 136 (o una secuencia codificante de CDR3 de VH descrita en la Tabla 19).

En algunos aspectos, la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VL 1-3 corresponden a las CDR de Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab o IMVT-1402. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 130 (o una secuencia codificante de CDR1 de VL descrita en la Tabla 19); la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VL correspondiente a la secuencia de aminoácidos DDS (o una secuencia codificante de CDR2 de VL descrita en la Tabla 19); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 131 (o una secuencia codificante de CDR3 de VL descrita en la Tabla 19).

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 139 (o una secuencia codificante de CDR1 de VL descrita en la Tabla 19); la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 140

(o una secuencia codificante de CDR2 de VL descrita en la Tabla 19); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 141 (o una secuencia codificante de CDR3 de VL descrita en la Tabla 19).

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo de dominio individual (por ejemplo, un nanocuerpo) que comprende (i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y/o una CDR3 de VH o (ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una CDR1, una CDR2 de VL y/o una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VH y/o CDR de VL codificadas se seleccionan de las CDR correspondientes de Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab o IMVT-1402.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica la secuencia de aminoácidos de Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab, IMVT-1402 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR listadas en la Tabla 19.

Tabla 19 – Secuencias de Anticuerpos anti-FcRn

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia**
Batoclimab de HC (SEQ ID NO: 123)	QLLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLSSSFSYWVWIRQ PPGKGLEWIGTIYYSGNTYYNPSLKSRLTISVDTSKNHFSL KLSSVTAADTAVYYCARRAGILTGYLDSWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
Batoclimab de VH (SEQ ID NO: 124)	QLLLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLSSSFSYWVWIRQ PPGKGLEWIGTIYYSGNTYYNPSLKSRLTISVDTSKNHFSL KLSSVTAADTAVYYCARRAGILTGYLDSWGQGTLVTVSS
Batoclimab de VH - CDR1 (SEQ ID NO: 125)	GGSLSSSFSY
Batoclimab de VH - CDR2 (SEQ ID NO: 126)	IYYSGNT
Batoclimab de VH - CDR3 (SEQ ID NO: 127)	ARRAGILTGYLDS
Batoclimab de LC (SEQ ID NO: 128)	SYVLTQSPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQ APVLVVYDDSDRPSGIPERFSASNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT TPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
Batoclimab de VL (SEQ ID NO: 129)	SYVLTQSPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQ APVLVVYDDSDRPSGIPERFSASNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVW
Batoclimab de VL - CDR1 (SEQ ID NO: 130)	NIGSKS
Batoclimab de VL - CDR2	DDS

Batoclimab de VL - CDR3 (SEQ ID NO: 131)	QVWDSSSDHVV
IMVT-1402 HC (SEQ ID NO: 132)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFGSSVMTWVRQAP GKGLEWVSVISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKTPWWLRSPFFDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
IMVT-1402 VH (SEQ ID NO: 133)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFGSSVMTWVRQAP GKGLEWVSVISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKTPWWLRSPFFDYWGQGTLVTVSS
IMVT-1402 VH - CDR1 (SEQ ID NO: 134)	SSVMT
IMVT-1402 VH - CDR2 (SEQ ID NO: 135)	VISGSGGSTYYADSVKG
IMVT-1402 VH - CDR3 (SEQ ID NO: 136)	TPWWLRSPFFDY
IMVT-1402 LC (SEQ ID NO: 137)	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGSNIGSTSVHWYQQKPGQ APVLVVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVRDSSSDHVIFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT TPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
IMVT-1402 VL (SEQ ID NO: 138)	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGSNIGSTSVHWYQQKPGQ APVLVVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDE ADYYCQVRDSSSDHVIFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTL
IMVT-1402 VL - CDR1 (SEQ ID NO: 139)	GGSNIGSTSVH
IMVT-1402 VL - CDR2 (SEQ ID NO: 140)	DDSDRPS

IMVT-1402 VL - CDR3 (SEQ ID NO: 141)	QVRDSSSDHVI

IV.A.5 Anticuerpos anti-TSHR

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpos), vectores, partículas de rAAV o composiciones que comprenden el ácido nucleico que codifica anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales) y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen específicamente al receptor de la hormona estimulante de la tiroides (TSHR, por sus siglas en inglés), también conocido como receptor de tirotopina. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-TSHR codificado comprende la secuencia de aminoácidos de K1-70, o fragmentos, variantes o derivados de la misma.

En algunos aspectos, la descripción se refiere a polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción que comprenden un promotor unido operativamente a un ácido nucleico que codifica para una inmunoglobulina, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a TSHR.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones de la descripción usadas

en los métodos descritos en la presente codifican un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión al antígeno de los mismos) que tiene las secuencias de CDR y/o región variable de teprotumumab o anticuerpos que tienen al menos 80% de identidad (por ejemplo, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad) con sus secuencias de CDR o región variable de K1-70. En algunos aspectos, la construcción de terapia génica que codifica para un anticuerpo anti-TSHR es una construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) (por ejemplo, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera). En algunos aspectos, la construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) comprende además un elemento F2A o IRES.

En algunos aspectos, los polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión de anticuerpo), vectores, partículas de rAAV o composiciones descritas en la presente comprenden un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que comprende una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo anti-TSHR o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-TSHR

comprende una cadena pesada y una cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO: 146 (o la secuencia de aminoácidos de HC en la Tabla 20). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos de cadena ligera correspondiente a SEQ ID NO: 147 (o la secuencia de aminoácidos de LC en la Tabla 20).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-TSHR comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada correspondiente a SEQ ID NO: 148 (o la secuencia de aminoácidos de VH en la Tabla 20). En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera correspondiente a SEQ ID NO: 149 (o la secuencia de aminoácidos de VL en la Tabla 20).

En algunos aspectos, la cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y una CDR3 de VH. En algunos aspectos, las CDR de VH 1-3 corresponden a las CDR de K1-70. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 150 (o

una secuencia codificante de CDR1 de VH descrita en la Tabla 20); la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 151 (o una secuencia codificante de CDR2 de VH descrita en la Tabla 20); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VH correspondiente a SEQ ID NO: 152 (o una secuencia codificante de CDR3 de VH descrita en la Tabla 20).

En algunos aspectos, la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VL 1-3 corresponden a las CDR de K1-70. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR1 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 153 (o una secuencia codificante de CDR1 de VL descrita en la Tabla 20); la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR2 de VL correspondiente a la secuencia de aminoácidos DNN (o una secuencia codificante de CDR2 de VL descrita en la Tabla 20); y la secuencia de ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de CDR3 de VL correspondiente a SEQ ID NO: 154 (o una secuencia codificante de CDR3 de VL descrita en la Tabla 20).

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo de dominio individual (por

ejemplo, un nanocuerpo) que comprende (i) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y/o una CDR3 de VH o (ii) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una CDR1, una CDR2 de VL y/o una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VH y/o CDR de VL codificadas se seleccionan de las CDR correspondientes de K1-70.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica la secuencia de aminoácidos de K1-70 o fragmentos, variantes o derivados de la misma.

En algunos aspectos, el polinucleótido descrito en la presente codifica un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las seis CDR listadas en la Tabla 20.

Tabla 20 – Secuencias de Anticuerpo anti-TSHR

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia**
K1-70 Cadena Pesada (SEQ ID NO: 146)	EVQLVQSGAEVKKPGQSLKISCKASGYSLTDNWIGWVRQKP GKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQ WSSLKASDTAIYYCVGLDWNYNPLRYWGPGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKS
K1-70 Cadena Ligera (SEQ ID NO: 147)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSDIGSNYVSWYQQFP GTAPKLLIYDNNKRPSAIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTG DEADYYCGTWDSRLGIAVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVE TTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGST VEKTVAPTE
K1-70 VH (SEQ ID NO: 148)	EVQLVQSGAEVKKPGQSLKISCKASGYSLTDNWIGWVRQKP GKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSINTAYLQ WSSLKASDTAIYYCVGLDWNYNPLRYWGPGTLVTVSS

K1-70 VL (SEQ ID NO: 149)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSDIGSNYVSWYQQFP GTAPKLLIYDNNKRPSAIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTG DEADYYCGTWDSRLGIAVFGGGTQLTVL
K1-70 HCDR1 (SEQ ID NO: 150)	GYSLTDNW
K1-70 HCDR2 (SEQ ID NO: 151)	IYPGDSDT
K1-70 HCDR3 (SEQ ID NO: 152)	VGLDWNYNPLRY
K1-70 LCDR1 (SEQ ID NO: 153)	SSDIGSNY
K1-70 LCDR2	DNN
K1-70 LCDR3 (SEQ ID NO: 154)	GTWDSRLGIAV

IV.A.6. Fragmentos de Unión al Antígeno

En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo descrito en la presente está codificado por un polinucleótido descrito en la presente. Los fragmentos de unión al antígeno de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, Fab, Fab', F(ab')2 y scFv, en donde el Fab, Fab', F(ab')2 o scFv comprende una secuencia de la región variable de cadena pesada y una secuencia de la región variable de cadena ligera de teprotumumab como se describe en la presente. Se puede producir un Fab, Fab', F(ab')2 o scFv mediante cualquier técnica conocida por los expertos en la técnica. En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno, tal como un Fab, Fab', F(ab')2 o scFv, comprende además una porción que extiende la semivida del anticuerpo in vivo. La porción

también se denomina “porción que prolonga la semivida”. Se puede usar cualquier porción conocida por los expertos en la técnica para extender la semivida de un fragmento de unión a antígeno, tal como un Fab, Fab ', F(ab')2 o scFv, *in vivo*. Por ejemplo, la porción que extiende la semivida puede incluir una región Fc, un polímero, una albúmina o una proteína o compuesto de unión a albúmina. El polímero puede incluir un polialquileno, polialquenileno, polioxilalquileno, polisacárido, polietilenglicol, polipropilenglicol, alcohol polivinílico, metoxipolietilenglicol, lactosa, amilosa, dextrano, glucógeno o un derivado de los mismos. Los sustituyentes pueden incluir uno o más grupos hidroxi, metilo o metoxi. En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno, tal como un Fab, Fab', F(ab')2 o scFv, se puede modificar mediante la adición de uno o más aminoácidos C-terminales para la unión de la porción que extiende la semivida. En algunos aspectos, la porción que prolonga la semivida es polietilenglicol o albúmina de suero humano. En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno, tal como un Fab, Fab', F(ab')2 o scFv, se fusiona a una región Fc.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmentos de unión al antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α o anti-CD28. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmentos de unión al antígeno del mismo se

selecciona del grupo que consiste en tocilizumab, teprotumumab, bevacizumab, ranibizumab, faricima, infliximab, daclizumab, secukinumab.

En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmentos de unión al antígeno del mismo se une específicamente a un receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1R), tal como IGF-1R humano, interleucina-6 (IL-6), receptor de interleucina-6 (IL-6-R), interleucina-11 (IL-11), receptor de interleucina-11 (IL-11R) o receptor Fc neonatal (FcRn).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de teprotumumab, VRDN-01100, VRDN-02700, ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751,871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, L52H52 o Lonigutamab, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R

codificado comprende la secuencia de aminoácidos de teprotumumab, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es teprotumumab, VRDN-01100, VRDN-02700, ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751,871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, L52H52 o Lonigutamab, o fragmentos, variantes, o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es VRDN-01100, VRDN-02700 o teprotumumab, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGFR comprende SEQ ID NO: 78 (correspondiente a VRDN-01100). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGFR comprende SEQ ID NO: 81 (correspondiente a VRDN-002700).

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6 codificado comprende la secuencia de aminoácidos de

Tocilizumab, Siltuximab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab, Levilimab, TOUR006 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de Sarilumab, Satralizumab o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11 codificado comprende la secuencia de aminoácidos de 9MW3811 o fragmentos, variantes o derivados de la misma.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11R codificado comprende la secuencia de aminoácidos de BI 765423, LASN01 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-FcRn codificado comprende la secuencia de aminoácidos de Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab, IMVT-1402 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-TSHR codificado comprende la secuencia de aminoácidos de K1-70.

En algunos aspectos, el anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente se modifica de modo que tenga una semivida mejorada y/o una toxicidad reducida.

En algunos aspectos, el anticuerpo codificado o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se puede seleccionar de cualquier clase de inmunoglobulinas, que incluyen IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, que incluye IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es biespecífico o multiespecífico.

IV.A.7. Casetes de Expresión de Anticuerpos

En ciertos aspectos, en la presente se proporcionan casetes de expresión de anticuerpos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica para un anticuerpo terapéutico o fragmento de unión a antígeno del mismo o un dominio del mismo (por ejemplo, una cadena ligera, una cadena pesada, una región de cadena ligera variable y/o una región de cadena pesada variable), y vectores, por ejemplo, vectores que comprenden estos casetes de expresión de anticuerpos para la expresión en una célula.

En algunos aspectos, en la presente se proporcionan casetes de expresión de anticuerpos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos que comprenden una secuencia de aminoácidos como se describe en la presente, así como anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno que compiten

con estos anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno, o que se unen al mismo epítopo que el de estos anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-6R, anti-IL-11, anti-IL11R, anti-FcRn, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α, anti-CD28 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α, anti-CD28 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en tocilizumab, teprotumumab, bevacizumab, ranibizumab, faricima, infliximab, daclizumab, secukinumab o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que

consiste en Tocilizumab, Siltuximab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab, Levilimab, TOUR006, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en Sarilumab, Satralizumab o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en 9MW3811 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en BI 765423, LASN01 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab, IMVT-1402 o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de

anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que teprotumumab, bevacizumab, ranibizumab, faricima, infliximab, daclizumab, secukinumab o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que Tocilizumab, Siltuximab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab, Levilimab, TOUR006, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que Sarilumab, Satralizumab o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que 9MW3811 o fragmentos, variantes o derivados del mismo.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que BI 765423, LASN01 o fragmentos, variantes o

derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab, IMVT-1402, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en teprotumumab, VRDN-01100, VRDN-02700, ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751,871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, L52H52 o

Lonigutamab, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que teprotumumab, VRDN-01100, VRDN-02700, ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751,871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, L52H52 o Lonigutamab, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica VRDN-01100, VRDN-02700 o un fragmento de unión a antígeno de las mismas.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que VRDN-01100, o VRDN-02700, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica teprotumumab, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende un marco de lectura abierto que comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende además un promotor de smCBA (por ejemplo, SEQ ID NO: 145).

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo que compite por la unión al mismo epítopo que el teprotumumab, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

También se proporciona en la presente un casete de expresión de anticuerpo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para un polipéptido que comprende una secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 9-26, 29-31, 34-42, 44, 46-48, 50, 52-75 o combinaciones de los mismos.

En la presente también se proporcionan kits, vectores o células hospedadoras que comprenden (i) un primer casete de

expresión de anticuerpos descrito en la presente; y (ii) un vector de administración.

También se proporcionan en la presente kits, vectores o células hospedadoras que comprenden (i) un primer casete de expresión de anticuerpo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica cualquiera de SEQ ID NOs: 9-26, 29-31, 34-42, 44, 46-48, 50, 52-75 o combinaciones de los mismos; y (ii) un vector de administración.

En algunos aspectos, en la presente se proporcionan casetes de expresión de anticuerpos que comprenden una secuencia de nucleótidos que comprende tres CDR del dominio VH, por ejemplo, una secuencia de nucleótidos que contiene CDR1 de VH, CDR2 de VH y CDR3 de VH de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente (por ejemplo, ver la Tabla 3), por ejemplo, en donde las tres CDR del dominio VH se encuentran en el contexto de una VH. En algunos aspectos, en la presente se proporcionan polinucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos que comprende tres CDR del dominio VL, por ejemplo, una secuencia de nucleótidos que contiene CDR1 de VL, CDR2 de VL y CDR3 de VL de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente (por ejemplo, ver la Tabla 4), por ejemplo, en donde las tres CDR del dominio VL están en el contexto de una VL. En algunos aspectos, en la presente se proporcionan casetes de expresión de anticuerpos (o combinaciones de polinucleótidos) que comprenden una

secuencia de nucleótidos que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende (i) tres CDR del dominio VH, por ejemplo, una secuencia de nucleótidos que contiene CDR1 de VH, CDR2 de VH y CDR3 de VH de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente (por ejemplo, ver la Tabla 3), por ejemplo, en donde las tres CDR del dominio VH se encuentran en el contexto de una VH y (ii) tres CDR del dominio VL, por ejemplo, una secuencia de nucleótidos que contiene CDR1 de VL, CDR2 de VL y CDR3 de VL de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente (por ejemplo, ver la Tabla 4), por ejemplo, en donde las tres CDR del dominio VL se encuentran en el contexto de una VL.

En algunos aspectos, en la presente se proporcionan casetes de expresión de anticuerpos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica tres CDR del dominio VH, por ejemplo, un polipéptido que contiene CDR1 de VH, CDR2 de VH y CDR3 de VH de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente (por ejemplo, ver la Tabla 3), por ejemplo, en donde las tres CDR del dominio VH están en el contexto de una VH. En algunos aspectos, en la presente se proporcionan casetes de expresión de anticuerpos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica tres CDR del dominio VL, por ejemplo, un polipéptido que contiene CDR1 de VL, CDR2 de VL y CDR3 de VL de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente (por ejemplo, ver la Tabla 4), por ejemplo, en

donde las tres CDR del dominio VL están en el contexto de una VL. En algunos aspectos, en la presente se proporcionan casetes de expresión de anticuerpos (o combinaciones de polinucleótidos) que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica para un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende (i) tres CDR del dominio VH, por ejemplo, un polipéptido que contiene CDR1 de VH, CDR2 de VH y CDR3 de VH de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente (por ejemplo, ver la Tabla 3), por ejemplo, en donde las tres CDR del dominio VH se encuentran en el contexto de una VH y (ii) tres CDR del dominio VL, por ejemplo, un polipéptido que contiene CDR1 de VL, CDR2 de VL y CDR3 de VL de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente (por ejemplo, ver la Tabla 4), por ejemplo, en donde las tres CDR del dominio VL se encuentran en el contexto de una VL.

En algunos aspectos, la cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VH y una CDR3 de VH. En algunos aspectos, las CDR de VH modificadas 1-3 corresponden a las CDR de teprotumumab. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR1 de VH comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 9 o 12;

la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR2 de VH comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 10, 13 o 15; y la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR3 de VH comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 11, 14 o 16.

En algunos aspectos, la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL. En algunos aspectos, las CDR de VL 1-3 corresponden a las CDR de teprotumumab. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR1 de VL comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 17; la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR2 de VL comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 18, 20 o 22; y la secuencia de ácido nucleico que codifica la CDR3 de VL comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 19, 21 o 23.

En la presente también se proporcionan casetes de expresión de anticuerpos que codifican para un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente o un dominio del mismo que se optimizan, por ejemplo, mediante optimización de codones/ARN, reemplazo con secuencias señal heterólogas y eliminación de elementos de inestabilidad del ARNm. Los métodos para generar ácidos nucleicos optimizados que codifican para un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente o un dominio del mismo (por ejemplo, cadena pesada, cadena ligera, dominio VH o dominio VL) para la expresión recombinante mediante la introducción de cambios de codones (por ejemplo, un cambio de codones que codifica el mismo aminoácido debido a la degeneración del código genético) y/o la eliminación de regiones inhibidoras en el ARNm se pueden llevar a cabo mediante la adaptación de los métodos de optimización descritos en, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Núms. 5,965,726; 6,174,666; 6,291,664; 6,414,132; y 6,794,498, en consecuencia, cada una de las cuales se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

Los casetes de expresión de anticuerpos descritos en la presente se pueden generar a partir de ácido nucleico de una fuente adecuada usando métodos bien conocidos en la técnica (por ejemplo, PCR y otros métodos de clonación

molecular). Por ejemplo, la amplificación por PCR usando cebadores sintéticos hibridables con los extremos 3’ y 5’ de una secuencia conocida se puede realizar usando ADN genómico obtenido de células de hibridoma que producen el anticuerpo de interés. En algunos aspectos, la línea celular de hibridoma tiene el número de acceso DSM ACC 2587 (depositado el 4 de octubre de 2003). En algunos aspectos, la línea celular de hibridoma tiene el número de acceso DSM ACC 2594 (depositado el 5 de septiembre de 2003). Estos métodos de amplificación por PCR se pueden usar para obtener ácidos nucleicos que comprenden la secuencia que codifica la cadena ligera y/o la cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. Estos métodos de amplificación por PCR se pueden usar para obtener ácidos nucleicos que comprenden la secuencia que codifica la región de cadena ligera variable y/o la región de cadena pesada variable de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. Los ácidos nucleicos amplificados se pueden clonar en vectores para la expresión en células hospedadoras y para la clonación adicional, por ejemplo, para generar anticuerpos quiméricos y humanizados o fragmentos de unión al antígeno de los mismos.

Los casetes de expresión de anticuerpos proporcionados en la presente pueden estar, por ejemplo, en forma de ARN o en forma de ADN. El ADN incluye ADNc, ADN genómico y ADN sintético, y el ADN puede ser de doble hebra o

de hebra individual. Si es de hebra individual, el ADN puede ser la cadena codificante o la cadena no codificante (antisentido). En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo es un ADNc o un ADN que carece de uno o más intrones endógenos. En algunos aspectos, un casete de expresión de anticuerpo es un casete de expresión de anticuerpo de origen no natural. En algunos aspectos, un casete de expresión de anticuerpo se produce de forma recombinante. En algunos aspectos, los casetes de expresión de anticuerpos están aislados. En algunos aspectos, los casetes de expresión de anticuerpos son sustancialmente puros. En algunos aspectos, un casete de expresión de anticuerpos se purifica a partir de componentes naturales.

En algunos aspectos, un vector viral descrito en la presente comprende un casete de expresión de anticuerpo que comprende regiones codificantes para dos o más polipéptidos, por ejemplo, una cadena pesada y una cadena ligera.

Cuando se desea, el casete de expresión de anticuerpos incluye regiones codificantes para dos o más cadenas polipeptídicas individuales, cada región codificante adicional más allá de la primera se une preferentemente a un elemento que facilita la coexpresión de las proteínas en las células hospedadoras, tal como un elemento de secuencia de entrada ribosómica interna (IRES, por sus siglas en inglés) (ver, por ejemplo,, Patente de los Estados Unidos Núm.

4,937,190), sitio de escisión de furina, un elemento 2A o promotor(es). En algunos aspectos, los sitios de escisión de furina IRES o los elementos 2A se pueden usar cuando un vector individual comprende secuencias que codifican cada subunidad de una proteína de múltiples subunidades. En el caso de que la proteína de interés sea inmunoglobulina con una especificidad deseada, por ejemplo, la primera región codificante (que codifica la cadena pesada o ligera de inmunoglobulina) se encuentra en dirección 5' del promotor. La segunda región codificante (que codifica la cadena restante de inmunoglobulina) puede ubicarse en dirección 5' de la primera región codificante, y un IRES, sitio de escisión de furina o elemento 2A puede disponerse entre las dos regiones codificantes, por ejemplo, inmediatamente antes de la segunda región codificante. En algunos aspectos, la incorporación de un IRES, sitio de escisión de furina o elemento 2A entre las secuencias de un primer y segundo gen (que codifican las cadenas pesadas y ligeras, respectivamente) puede permitir que ambas cadenas se expresen a partir del mismo promotor a aproximadamente el mismo nivel en la célula.

En algunos aspectos, la proteína de interés comprende dos o más subunidades, por ejemplo, una inmunoglobulina (Ig). En algunos aspectos, un vector de administración de la descripción puede incluir una región codificante para cada

una de las subunidades. Por ejemplo, el vector viral puede incluir tanto la región codificante para la cadena pesada de Ig (o la región variable de la cadena pesada de Ig) como la región codificante para la cadena ligera de Ig (o la región variable de la cadena ligera de Ig). En algunos aspectos, los vectores incluyen una primera región codificante para la región variable de cadena pesada de un anticuerpo, y una segunda región codificante para la región variable de cadena ligera del anticuerpo. En algunos aspectos, las dos regiones codificantes se pueden separar, por ejemplo, mediante una secuencia de autoprocesamiento 2A para permitir la transcripción multicistrónica de las dos regiones codificantes.

El vector viral puede incluir regiones codificantes para dos o más proteínas de interés. Por ejemplo, el vector viral puede incluir la región codificante para una primera proteína de interés y la región codificante para una segunda proteína de interés. La primera proteína de interés y la segunda proteína de interés pueden ser iguales o diferentes.

La secuencia de consenso de Kozak, secuencia de consenso de Kozak o secuencia de Kozak, se conoce como una secuencia que se produce en ARNm eucariota y tiene el consenso (gcc)gccRccAUGG, donde R es una purina (adenina o guanina) tres bases en dirección 3’ del codón de inicio (AUG), que es seguido por otra "G." En algunos aspectos, el

vector comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95% de identidad de secuencia, o más con la secuencia de consenso de Kozak. En algunos aspectos, el vector comprende una secuencia de consenso de Kozak. En algunos aspectos, el vector incluye una secuencia de consenso de Kozak después de que el polinucleótido que codifica para una o más proteínas de interés se inserta en el vector, por ejemplo, en el sitio de restricción en dirección 5' del promotor. Por ejemplo, el vector puede incluir una secuencia de nucleótidos de GCCGCCATG, donde el ATG es el codón de inicio de la proteína de interés. En algunos aspectos, el vector comprende una secuencia de nucleótidos de GCGGCCGCCATG (SEQ ID NO: 84), donde el ATG es el codón de inicio de la proteína de interés.

En ciertos aspectos, se proporciona en la presente una composición que comprende un vector de administración, por ejemplo, un vector viral, que comprende ácidos nucleicos que codifican para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo).

V. Construcciones Vectoriales

Algunos aspectos de la descripción se dirigen a una construcción de vector o una construcción de expresión (por

ejemplo, un casete de expresión) que tiene un promotor eucariota unido operativamente a un ADN de interés que un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo). En algunos aspectos, las construcciones de vector o las construcciones de expresión que contienen la secuencia de ADN (o la secuencia de ARN correspondiente) que se pueden usar de acuerdo con la descripción pueden ser cualquier construcción de expresión eucariota que contenga el ADN o la secuencia de ARN de interés. Por ejemplo, un plásmido o construcción viral (por ejemplo, un vector de AAV) se puede escindir para proporcionar ADN lineal que tiene extremos ligables. Estos extremos se unen a ADN exógeno que tiene extremos complementarios, como ligables para proporcionar una molécula de ADN recombinante biológicamente funcional que tiene un replicón intacto y una propiedad fenotípica deseada. En algunos aspectos, la construcción de vector o construcción de expresión es capaz de replicarse tanto en hospedadores eucariotas como procariotas, construcciones que se conocen en la técnica y están disponibles comercialmente.

En algunos aspectos, la construcción de vector o construcción de expresión de la descripción que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un

anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) es una construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) (por ejemplo, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera). En algunos aspectos, la construcción multicistrónica (por ejemplo, bicistrónica) comprende además un elemento F2A o IRES.

En algunos aspectos, el agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) es un anticuerpo.

En algunos aspectos, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-6R, anti-IL-11, anti-IL11R, anti-FcRn, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α, anti-CD28 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α, anti-CD28 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en tocilizumab, teprotumumab, bevacizumab, ranibizumab, faricima, infliximab, daclizumab, secukinumab o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es teprotumumab, VRDN-01100, VRDN-02700, ganitumab (AMG 479), figitumumab, CP-751,871, cixutumumab (AMG 655), IMC-A12, dalotuzumab, MK0646, RG1507, robatumumab, SCH 717454, AVE-1642a, MEDI-573, BIIB022, rhuMab IGFR, L1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, L27H27, L28H28, L29H29, L30H30, L31H31, L32H32, L33H33, L34H34, L35H35, L36H36, L37H37, L38H38, L39H39, L40H40, L41H41, L42H42, L43H43, L44H44, L45H45, L46H46, L47H47, L48H48, L49H49, L50H50, L51H51, L52H52 o Lonigutamab, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es VRDN-01100, o VRDN-02700, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es teprotumumab, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el teprotumumab está codificado por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 53.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGFR

comprende SEQ ID NO: 78 (correspondiente a VRDN-01100). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGFR comprende SEQ ID NO: 81 (correspondiente a VRDN-002700).

El ADN exógeno (es decir, donante) usado en la descripción se obtiene a partir de células adecuadas, y las construcciones de vector o las construcciones de expresión se preparan usando técnicas bien conocidas en la técnica. Del mismo modo, las técnicas para obtener la expresión de secuencias de ADN o ARN exógenas en una célula hospedadora genéticamente alterada se conocen en la técnica (ver, por ejemplo, *Kormal et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA, 84:2150-2154 (1987); Sambrook *et al*. Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2ª Ed., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; cada una de las cuales se incorpora a la presente mediante esta referencia con respecto a métodos y composiciones para la expresión eucariota de un ADN de interés).

En algunos aspectos, la construcción de vector o construcción de expresión contiene un promotor para facilitar la expresión del ADN de interés dentro de una célula secretora. En algunos aspectos, el promotor es un promotor eucariota fuerte tal como un promotor de citomegalovirus humano (CMV), promotor de CMV de ratón, virus de tumor mamario de ratón (MMTV, por sus siglas en inglés), virus del sarcoma de Rous (RSV, por sus siglas en inglés) o adenovirus.

Los ejemplos de promotores incluyen, pero no se limitan a, el promotor del gen temprano inmediato de CMV humano (Boshart *et al., Cell* 41:521-530 (1985) y el promotor de la repetición terminal larga (LTR, por sus siglas en inglés) de RSV (Gorman *et ál., Proc. Natl. Acad. Sci*. USA 79:6777-6781 (1982)). En algunos aspectos, el promotor es un potenciador temprano de CMV/promotor de β actina de pollo (CBA, por sus siglas en inglés), promotor de CAG, CMV, EF1α, EF1α con un potenciador de CMV, un promotor de CMV con un potenciador de CMV (CMVe/p), un promotor de CBA con un potenciador de CMV, un promotor de CMV con un intrón de SV40, un promotor de CBA con un potenciador de CMV y un intrón de CAG, un promotor de EF1α con un LTR 5’ truncado y un intrón de HBG e IgHC quimérico, o un promotor específico de tejido. En algunos aspectos, el promotor específico de tejido es un promotor específico de músculo. En algunos aspectos, el promotor específico de músculo es un promotor de DES, un promotor de HSA, un promotor de MCK, un promotor de HMCK7, un promotor de dMCK, un promotor de tMCK, un promotor de CK8e, un promotor de SPc5-12, un promotor de SP-301, un promotor de MH, un promotor de Sk-CRM o un promotor de Sk-CRM4.

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que comprende el promotor puede comprender un intrón. En algunos aspectos, el intrón se selecciona del grupo que consiste en un intrón de SV40, un intrón de MVM, un intrón de

CAG o un intrón de betaglobina humana. En algunos aspectos, un promotor de CMVp se fusiona a un intrón de SV40.

Alternativamente, el promotor usado puede ser un promotor específico de tejido. Por ejemplo, cuando la célula es un fibroblasto, el promotor específico de tejido puede ser un promotor de la proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 2 (IGFBP2), un promotor de la proteína de activación de fibroblastos (FAP, por sus siglas en inglés) o un promotor de la proteína específica de fibroblastos 1 (FSP1, por sus siglas en inglés). Cuando la célula es un miocito, el promotor específico de tejido puede ser un promotor de creatina cinasa muscular (MCK, por sus siglas en inglés), promotor de troponina I (TNNI2), promotor de alfa-actina esquelética (ASKA, por sus siglas en inglés), un promotor de DES, un promotor de HSA, un promotor de MCK, un promotor de HMCK7, un promotor de dMCK, un promotor de tMCK, un promotor de CK8e, un promotor de SPc5-12, un promotor de SP-301, un promotor de MH, un promotor de Sk-CRM o un promotor de Sk-CRM4. Cuando la célula es un adipocito, el promotor específico de tejido puede ser un promotor de adiponectina o un promotor de la proteína de unión a ácidos grasos (AP2) del adipocito.

En algunos aspectos, la construcción de vector o construcción de expresión contiene un primer promotor y un segundo promotor. En algunos aspectos, el primer y el segundo

promotor son diferentes. En algunos aspectos, el primer y el segundo promotor son iguales. En algunos aspectos, el primer y segundo promotor inician la transcripción en la misma dirección. En algunos aspectos, el primer y el segundo promotor inician la transcripción en diferentes direcciones. En algunos aspectos, el primer o segundo promotor en un promotor de CMV. En algunos aspectos, el primer o segundo promotor es un promotor EF-1α.

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica el primer promotor y la secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo promotor están unidas operativamente. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica el primer promotor y la secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo promotor están unidas operativamente por un elemento de pausa.

En algunos aspectos, los vectores multicistrónicos descritos en la presente comprenden secuencias de sitio de entrada al ribosoma interno (IRES) o péptidos 2A. En algunos aspectos, las construcciones de la descripción también pueden incluir sitios de escisión proteolítica. En algunos aspectos, los sitios de escisión proteolítica son sitios de escisión de furina y/o sitios de escisión 2A.

En algunos aspectos, las construcciones de vector o construcciones de expresión de la descripción también pueden incluir otros componentes tal como un marcador (por ejemplo,

un gen de resistencia a antibióticos (tal como un gen de resistencia a ampicilina) o β-galactosidasa) para ayudar en la selección de células que contienen y/o expresan la construcción, un origen de replicación para la replicación estable de la construcción en una célula bacteriana (preferentemente, un origen de replicación de alto número de copias), una señal de localización nuclear u otros elementos que facilitan la producción de la construcción de ADN, la proteína codificada de esta manera, o ambos. En algunos aspectos, las construcciones de vector de la descripción pueden comprender un gen de resistencia a antibióticos que incluye, pero no se limita a, neomicina, kanamicina, puromicina y/o zeocina. En algunos aspectos, las construcciones de vector de la descripción pueden comprender un origen de replicación de ColE1, f1, pUC, p15A o pMB1.

En algunos aspectos, la construcción de vector de la descripción contiene una estructura principal que comprende un origen de replicación de ColE1 y/o un gen de resistencia a la kanamicina.

Para la expresión eucariota, la construcción de vector o construcción de expresión puede comprender como mínimo un promotor eucariota unido operativamente a un ADN de interés, que a su vez está unido operativamente a una secuencia de poliadenilación. La secuencia señal de poliadenilación se puede seleccionar de cualquiera de una

variedad de secuencias señal de poliadenilación conocidas en la técnica. En algunos aspectos, la secuencia señal de poliadenilación es la secuencia señal de poliadenilación temprana de SV40. En algunos aspectos, la secuencia señal de poliadenilación es la secuencia señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento bovina (bGHpA). En algunos aspectos, la secuencia señal de poliadenilación es la secuencia señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento humana (hGHpA). En algunos aspectos, la secuencia señal de poliadenilación es la secuencia señal de poliadenilación de SV40 (SV40pA). La construcción también puede incluir uno o más intrones, que pueden aumentar los niveles de expresión del ADN de interés, particularmente cuando el ADN de interés es un ADNc (por ejemplo, no contiene intrones de la secuencia de origen natural). Se puede usar cualquiera de una variedad de intrones conocidos en la técnica (por ejemplo, el intrón de β-globina humana, que se inserta en la construcción de vector o construcción de expresión en una posición 5’ con respecto al ADN de interés). En algunos aspectos, el intrón es un intrón SV40. En algunos aspectos, el intrón es de una cadena pesada de inmunoglobulina. En algunos aspectos, el intrón es una quimera entre el gen de cadena pesada de β-globina e inmunoglobulina humana.

En algunos aspectos, el polinucleótido comprende un

poli(A). En algunos aspectos, el poli(A) es un poli(A) sintético o un poli(A) de hormona de crecimiento bovino (BGH, por sus siglas en inglés).

Cuando se desea incluir regiones codificantes para dos o más cadenas polipeptídicas individuales, o dos o más subunidades de una proteína de interés en un vector viral, cada región codificante adicional más allá de la primera se une preferentemente a un elemento que facilita la coexpresión de las proteínas en células hospedadoras, tal como un elemento de secuencia de entrada ribosómica interna (IRES) (ver, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Núm. 4,937,190), o un elemento 2A. En algunos aspectos, se pueden usar IRES, sitio de escisión de furina o elementos 2A cuando un vector individual comprende secuencias que codifican cada subunidad de una proteína de múltiples subunidades. En el caso de que la proteína de interés sea inmunoglobulina con una especificidad deseada, por ejemplo, la primera región codificante (que codifica la cadena pesada o la ligera de la inmunoglobulina) se encuentra en dirección 5’ del promotor. La segunda región codificante (que codifica la cadena restante de inmunoglobulina) puede ubicarse en dirección 5’ de la primera región codificante, y un IRES, sitio de escisión de furina o elemento 2A puede disponerse entre las dos regiones codificantes, por ejemplo, inmediatamente antes de la segunda región codificante. En algunos aspectos, la

incorporación de un IRES, sitio de escisión de furina o elemento 2A entre las secuencias de un primer y segundo gen (que codifican las cadenas pesadas y ligeras, respectivamente) puede permitir que ambas cadenas se expresen a partir del mismo promotor a aproximadamente el mismo nivel en la célula.

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico de la construcción de vector o construcción de expresión comprende un promotor, cadena pesada, IRES y secuencias de cadena ligera en orientación 5'-3'. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico de la construcción comprende un promotor, variable ligera, IRES y secuencias de cadena pesada en orientación 5'-3'.

En algunos aspectos, la construcción de vector de secuencia de ácido nucleico o construcción de expresión comprende sitios de escisión proteolítica. Por ejemplo, la secuencia de ácido nucleico puede comprender una secuencia que se incorpora en una construcción de vector o construcción de expresión de la descripción adyacente a un sitio de escisión de autoprocesamiento, tal como una secuencia 2A o similar a 2A, y proporciona un medio para remover aminoácidos adicionales que permanecen después de la escisión por la secuencia de escisión de autoprocesamiento. Los sitios de escisión proteolítica de ejemplo se describen en la presente e incluyen, pero no se limitan a, sitios de escisión de

furina con la secuencia consenso RXK(R)R. Estos sitios de escisión de furina pueden escindirse mediante proteasas endógenas similares a subtilisina, tal como furina y otras serina proteasas dentro de la vía de secreción de proteínas. En algunos aspectos, se pueden usar otros "sitios de escisión proteolítica adicionales" de ejemplo, como se describe, por ejemplo, en Lie *et al.*, *Sci Rep* 7, 2193 (2017).

En algunos aspectos, la construcción de vector de secuencia de ácido nucleico o construcción de expresión comprende un ácido nucleico que codifica para un péptido señal unido operativamente a un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a un receptor del factor de crecimiento tipo insulina 1. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal endógeno para HGH y variantes de la misma; un péptido señal endógeno para interferones y variantes de los mismos, que incluye el péptido señal de interferones de tipo I, II y III y variantes de los mismos; un péptido señal endógeno para citocinas conocidas y variantes de las mismas, tal como el péptido señal de eritropoyetina (EPO), insulina, TGF-β1, TNF, IL1-α e IL1-β, y variantes de los mismos. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal modificado. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal de IL-2. En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal de IL-10. En algunos aspectos, el péptido

señal comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NOs: 45 o 51. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido señal comprende una secuencia de ácido nucleico al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 44 o 50.

En algunos aspectos, el promotor se selecciona del grupo que consiste en un promotor de CAG, un promotor de CBA, un promotor de CMV, un promotor de EF1α, un promotor de EF1α con un potenciador de CMV, un promotor de CMV con un potenciador de CMV (CMVe/p), un promotor de CMV con un intrón de SV40 o un promotor específico de tejido. En algunos aspectos, el promotor específico de tejido se selecciona de un promotor de DES, un promotor de HSA, un promotor de MCK, un promotor de HMCK7, un promotor de dMCK, un promotor de tMCK, un promotor de CK8e, un promotor de SPc5-12, un promotor de SP-301, un promotor de MH, un promotor de Sk-CRM y un promotor de Sk-CRM4.

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que comprende el promotor puede comprender un intrón. En algunos aspectos, el intrón se selecciona del grupo que consiste en un intrón de CAG, un intrón de SV40, un intrón de MVM o un intrón de betaglobina humana. En algunos aspectos,

un CMVp se fusiona a un intrón SV40.

En algunos aspectos, el primer y el segundo promotor son diferentes. En algunos aspectos, el primer y el segundo promotor son iguales. En algunos aspectos, el primer y segundo promotor inician la transcripción en la misma dirección. En algunos aspectos, el primer y el segundo promotor inician la transcripción en diferentes direcciones.

En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica el primer promotor y la secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo promotor están unidas operativamente. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico que codifica el primer promotor y la secuencia de ácido nucleico que codifica el segundo promotor están unidas operativamente por un elemento de pausa.

Los vectores para la administración del ADN de interés pueden ser virales o no virales, o pueden estar compuestos por ADN desnudo mezclado con un adyuvante tal como partículas virales (por ejemplo, partícula de AAV) o lípidos o liposomas catiónicos. Un "adyuvante" es una sustancia que no produce por sí misma el efecto deseado, pero actúa para potenciar o mejorar de otro modo la acción del compuesto activo.

V.A.1. Vectores de Administración

En algunos aspectos, el vector de administración que comprende un ácido nucleico que codifica o que comprende un

agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo) es un vector viral, un vector no viral, un plásmido, un lípido o un lisosoma.

En algunos aspectos, la descripción proporciona una composición que comprende un vector de administración (por ejemplo, un vector viral, un vector no viral, un plásmido, un lípido, una partícula de proteína, un vector bacteriano o un lisosoma) que comprende un ácido nucleico que codifica o que comprende un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo).

En algunos aspectos, el efecto terapéutico del agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) es local, sistémico o ambos.

En algunos aspectos, la administración o suministro del vector de administración, o composición, descrito en la presente, es por inyección (por ejemplo, por inyección periocular). En algunos aspectos, la administración o suministro es por infusión. En algunos aspectos, la administración o suministro es por inyección y/o infusión

como una dosis individual. En algunos aspectos, la administración de dosis individual comprende múltiples inyecciones o infusiones. En algunos aspectos, la administración o suministro es mediante inyección y/o infusión como dosis múltiples. En algunos aspectos, cada una de las múltiples dosis de administración comprende múltiples inyecciones o infusiones.

En algunos aspectos, el vector de administración, o la composición, descrita en la presente es adecuada para la administración a un tejido epitelial, un tejido neuroepitelial, un tejido conectivo, un tejido muscular y/o tejido adiposo (por ejemplo, mediante inyección periocular).

En algunos aspectos, el vector de administración, o la composición, descrita en la presente es adecuada para la administración a la región oftálmica (es decir, región ocular o periocular, a un ojo o cerca de un ojo (por ejemplo, uno o ambos ojos)), por ejemplo, el vector de administración, o la composición, es adecuada para la administración periocular.

En algunos aspectos, la administración o suministro es a uno o más tejidos orbitales o compartimentos extraoculares. En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimentos extraoculares se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares,

músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal o película lagrimal.

En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es), se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el tejido periocular es un tejido retrobulbar.

En algunos aspectos, la administración o suministro (por ejemplo, mediante inyección periocular) es a un músculo extraocular. En algunos aspectos, el músculo extraocular es un músculo elevador, un músculo recto (por ejemplo, un músculo recto lateral, medial, superior o inferior), un músculo oblicuo (por ejemplo, un músculo oblicuo inferior o superior). En algunos aspectos, la administración o suministro es a un tejido conectivo. En algunos aspectos, la administración o suministro es a un tejido adiposo.

En algunos aspectos, la administración o

administración (por ejemplo, mediante inyección periocular) es a una célula ocular o periocular. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de las mismas. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, el agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) comprendido en un vector de administración (por ejemplo, un vector viral, un vector no viral, un plásmido, un lípido, una partícula de proteína, un vector bacteriano o un lisosoma) o composición se produce en una célula. En algunos aspectos, la célula es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, la administración es a un tejido periorbital y/o retroorbital (por ejemplo, mediante inyección periocular). En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular a un músculo periorbital y/o retroorbital.

En algunos aspectos, la administración mediante inyección retrobulbar es a un músculo retrobulbar (por ejemplo, el espacio retrobulbar dentro del cono muscular extraocular lateral). En algunos aspectos, la administración es a un músculo elevador. En algunos aspectos, la administración es a un músculo recto (por ejemplo, un músculo recto lateral, medial, superior o inferior). En algunos aspectos, la administración es a un músculo oblicuo (por ejemplo, un músculo oblicuo inferior o superior).

En algunos aspectos, la administración mediante inyección retrobulbar es a un tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la administración mediante inyección retrobulbar es a un fibroblasto en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la administración mediante inyección retrobulbar es a un miofibroblasto en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la administración mediante inyección retrobulbar es a un adipocito en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la administración mediante inyección retrobulbar es a un miocito en el tejido conectivo periorbital o retroorbital.

En algunos aspectos, el vector de administración comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico. En algunos aspectos, el agente terapéutico es una proteína terapéutica. En algunos aspectos,

la proteína terapéutica es un anticuerpo terapéutico. En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico se selecciona del grupo que consiste en anti-IGF-1R, anti-VEGF, anti-IL-6, anti-IL-2, anti-IL-17A, anti-TNF-α, anti-CD28 o un fragmento de unión a antígeno de los mismos. En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico se selecciona del grupo que consiste en tocilizumab, teprotumumab, bevacizumab, ranibizumab, faricima, infliximab, daclizumab, secukinumab o un fragmento de unión a antígeno de los mismos. En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico es teprotumumab. En algunos aspectos, el anticuerpo terapéutico comprende: (i) CDR de VH 1-3 (por ejemplo, 1) SEQ ID NOs: 9-11; 2) SEQ ID NOs: 12-14, o 3) SEQ ID NOs: 12, 15 y 16) y CDR de VL 1-3 (por ejemplo, 1) SEQ ID NOs: 17-19, 2) SEQ ID NOs: 17, 20 y 21; o 3) SEQ ID NOs: 17, 22 y 23); (ii) VH (por ejemplo, SEQ ID NOs: 24-26) y VL (por ejemplo, SEQ ID NOs: 29-31); (iii) HC (por ejemplo, SEQ ID NOs: 40-42) y LC (por ejemplo, SEQ ID NOs: 46-48); o (iv) una construcción de vector o construcción de expresión (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpo) que comprende cualquiera de SEQ ID NOs: 67-75, en donde la construcción de vector o construcción de expresión (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpo) comprende además uno o más de IRES, sitio de escisión de furina, sitio 2A, un

promotor dual (por ejemplo, promotor-VH-IRES-VL, etc.), o un péptido señal (por ejemplo, un péptido señal de IL-2 o IL-10).

V.A.2 Vectores Virales

En algunos aspectos, el vector de administración que comprende el ADN de interés (por ejemplo, un ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) es un vector viral. En algunos aspectos, los vectores virales usados de acuerdo con la descripción se componen de una partícula viral derivada de un virus de origen natural, que se ha alterado genéticamente para hacer que la replicación del virus sea defectuosa y para expresar un gen recombinante de interés de acuerdo con la descripción. Una vez que el virus entrega su material genético a una célula, no genera virus infecciosos adicionales, pero introduce genes recombinantes exógenos en la célula, preferentemente en el genoma de la célula.

En algunos aspectos, el vector viral es un retrovirus, un adenovirus, un virus adenoasociado (AAV), un virus del herpes simple (HSV, por sus siglas en inglés), un citomegalovirus (CMV), una vacuna y un vector de poliovirus. En algunos aspectos, los vectores retrovirales son menos preferidos ya que los retrovirus requieren células

replicantes y los órganos diana pueden comprender células de replicación lenta y/o diferenciadas terminalmente. En algunos aspectos, el adenovirus y el AAV son vectores virales preferidos ya que este virus infecta eficazmente las células de replicación lenta y/o diferenciadas terminalmente. En algunos aspectos, el vector de administración (por ejemplo, vector viral) se selecciona del grupo que consiste en un vector viral adenoasociado (AAV), un vector adenoviral, un vector lentiviral o un vector retroviral.

Cuando se usa un virus de replicación deficiente como vector viral, la producción de partículas de virus infecciosas que contienen ADN o ARN correspondiente al ADN de interés se puede producir mediante la introducción de la construcción viral en una línea celular recombinante, que proporciona los componentes faltantes esenciales para la replicación viral. En algunos aspectos, la transformación de la línea celular recombinante con el vector viral recombinante no dará como resultado la producción de virus competentes para la replicación, por ejemplo, mediante recombinación homóloga de las secuencias virales de la línea celular recombinante en el vector viral introducido. Los métodos para la producción de partículas virales con deficiencia de replicación que contienen un ácido nucleico de interés son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Rosenfeld *et al.*, *Science* 252:431-434 (1991) y

Rosenfeld *et al*., Cell 68:143-155 (1992) (adenovirus); Patente de los Estados Unidos Núm. 5,139,941 (virus adenoasociado); Patente de los Estados Unidos Núm. 4,861,719 (retrovirus); y Patente de los Estados Unidos Núm. 5,356,806 (virus vaccinia).

VI. Terapia Génica Mediada por Virus Adenoasociados (AAV)

En algunos aspectos, la descripción se refiere a la administración periocular de un vector que comprende el ADN de interés (por ejemplo, un ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo), en donde el vector es un vector de AAV. AAV, un parvovirus perteneciente al género *Dependovirus*, tiene varias características que no se encuentran en otros virus. Por ejemplo, el AAV puede infectar una amplia gama de células hospedadoras, incluidas las células que no se dividen. Además, el AAV puede infectar células de diferentes especies. El AAV no se ha asociado con ninguna enfermedad humana o animal, y no parece alterar las propiedades fisiológicas de la célula hospedador tras la integración. Finalmente, el AAV es estable en una amplia gama de condiciones físicas y químicas, lo que se presta a los requisitos de producción, almacenamiento y transporte.

El genoma de AAV, una molécula de ADN lineal de cadena simple que contiene aproximadamente 4700 nucleótidos (el genoma de AAV-2 incluye 4681 nucleótidos), generalmente comprende un segmento interno no repetitivo flanqueado en cada extremo por repeticiones terminales invertidas (ITR). Las ITR tienen aproximadamente 145 nucleótidos de longitud (AAV-1 tiene ITR de 143 nucleótidos) y tienen múltiples funciones, que incluyen servir como orígenes de replicación y como señales de empaquetamiento para el genoma viral.

La porción interna no repetida del genoma incluye dos grandes marcos de lectura abiertos (ORF, por sus siglas en inglés), conocidos como las regiones de replicación de AAV (rep) y cápside (cap). Estos ORF codifican productos génicos de replicación y de la cápside, respectivamente: los productos génicos de replicación y de la cápside (es decir, proteínas) permiten la replicación, el ensamblaje y el empaquetamiento de un virión de AAV completo. Más específicamente, una familia de al menos cuatro proteínas virales se expresa a partir de la región rep de AAV: Rep 78, Rep 68, Rep 52 y Rep 40, todos los cuales reciben su nombre por sus pesos moleculares aparentes. La región cap de AAV codifica al menos tres proteínas: VP1, VP2 y VP3.

El AAV es un virus dependiente de auxiliares, que requiere la coinfección con un virus auxiliar (por ejemplo, adenovirus, herpesvirus o virus vaccinia) para formar

viriones de AAV funcionalmente completos. En ausencia de coinfección con un virus auxiliar, el AAV establece un estado latente en el que el genoma viral se inserta en un cromosoma de la célula hospedadora o existe en una forma episómica, pero no se producen viriones infecciosos. La infección posterior por un virus auxiliar "rescata" el genoma integrado, permitiendo que se replique y se empaquete en cápsides virales, reconstituyendo de esta manera el virión infeccioso. Si bien el AAV puede infectar células de diferentes especies, el virus auxiliar debe ser de la misma especie que la célula hospedadora. Por lo tanto, por ejemplo, el AAV humano se replicará en células caninas que se han coinfectado con un adenovirus canino.

En algunos aspectos, para producir viriones de AAV recombinante (rAAV) que contienen el ADN de interés, se transfecta una línea celular hospedadora adecuada con un vector de AAV que contiene el ADN, pero que carece de rep y cap. Luego, la célula hospedadora se infecta con AAV de tipo silvestre (wt, porbsus siglas en inglés) y un virus auxiliar adecuado para formar viriones de rAAV. De manera alternativa, los genes de AAV wt (conocidos como genes de función auxiliar, que comprenden rep y cap) y los genes de función del virus auxiliar (conocidos como genes de función accesoria) se pueden proporcionar en uno o más plásmidos, eliminando de esta manera la necesidad de AAV wt y virus

auxiliar en la producción de viriones de rAAV. Los productos génicos de función auxiliar y accesoria se expresan en la célula hospedadora donde actúan en trans en el vector rAAV que contiene el gen heterólogo. El gen heterólogo luego se replica y empaqueta como si fuera un genoma de AAV wt, formando un virión de AAV recombinante. Cuando las células de un paciente se transducen con el virión rAAV resultante, el ADN entra y se expresa en las células del paciente. Debido a que las células del paciente carecen de los genes rep y cap, así como de los genes de función accesoria, el virión rAAV no puede replicarse y empaquetar más sus genomas. Además, sin una fuente de genes rep y cap, no se pueden formar viriones de AAV wt en las células del paciente. Ver, por ejemplo, Publicación de Solicitud de los Estados Unidos Núm. 2003/0147853.

En algunos aspectos, los vectores de AAV de la presente descripción pueden comprender o derivar de cualquier serotipo de AAV natural o recombinante. De acuerdo con la presente descripción, el serotipo de AAV puede ser, pero no se limita a, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAV9, AAV10, AAVrh10, AAV11 y AAV12. En algunos aspectos, el vector de AAV es un serotipo de AAV8. En algunos aspectos, el vector de AAV es un serotipo de AAV9. En algunos aspectos, el vector de AAV es un AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAVS3, AAVrh.74, AAV type 9e, AAVrh.20, AAVrh.39, AAVrh.46,

AAVrh.73, AAVrh.74, AAVhu.12, AAVhu.21, AAVhu.26, AAVhu.37, AAVhu.51, AAV.RHM4-1, AAV.Anc80, AAV.7m8, AAV.PHP.B, AAV.PHP.eB, AAV2.5, AAV2tYF, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13, AAV.HSC14, AAV.HSC15 o serotipo AAV.HSC16. En algún aspecto, el vector de AAV se modifica con respecto a la secuencia de serotipo de AAV de tipo silvestre. En algunos aspectos, el vector de AAV modificado es un vector de AAV6 modificado. En algunos aspectos, el AAV6 modificado es un vector de AAV6-RGD. En algunos aspectos, el vector de AAV6-RGD comprende además aminoácidos modificados correspondientes a Y705, Y731, T492 y K531 (por ejemplo, Y705, Y731F, T492V y K531E; también denominado AAV-RGD-Y705-731F+T492V+K531E). En algunos aspectos, el serotipo de AAV es un serotipo sintético (por ejemplo, AAV-DJ, AAV-PHP.B, AAV2-ESGHGYF, AAVM41, AAV-LK03, AAV2-BR1, AAV587MTP, AAV-Anc80L65, AAV2-7m8, AAV2HBKO, AAV2YF, AAV6-RGD o cápside de AAV6.2). En algunos aspectos, el serotipo de AAV es AAV8. En algunos aspectos, el serotipo de AAV es AAV9. En algunos aspectos, el serotipo de AAV es AAV6. En algunos aspectos, el serotipo de AAV es un AAV6 modificado, por ejemplo, AAV6 que comprende el péptido RGD (AAV6-RGD) o AAV6 que comprende mutaciones de residuos de tirosina expuestos en la superficie como se describe, por ejemplo, en Sayroo *et al*. Gene Ther. Ene 2016; 23(1):18-25.

En algunos aspectos, el serotipo de AAV es AAV-DJ.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un vector de administración de AAV que comprende un polinucleótido, un casete de expresión de anticuerpo que comprende un ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico. En algunos aspectos, el agente terapéutico es adecuado para el tratamiento de una patología oftálmica. En algunos aspectos, el agente terapéutico es un anticuerpo. En algunos aspectos, el agente terapéutico es un anticuerpo anti-IGF-1R.

En algunos aspectos, el vector de AAV descrito en la presente es adecuado para la administración a la región oftálmica (es decir, región ocular y/o periocular). En algunos aspectos, el vector de AAV es adecuado para la administración a la región oftálmica (es decir, región ocular y/o periocular) mediante inyección (por ejemplo, inyección periocular).

En algunos aspectos, el vector de AAV descrito en la presente se puede administrar en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales.

En algunos aspectos, el vector de AAV descrito en la presente puede administrarse en combinación (por ejemplo, simultánea o secuencialmente) con uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunos aspectos, el uno o más agentes terapéuticos adicionales se pueden administrar antes,

al mismo tiempo o después de la administración del vector de AAV descrito en la presente.

VI.A.1. Componentes del Vector de AAV

En algunos aspectos, el vector, construcción o polinucleótido de AAV de la descripción comprende ITR flanqueantes, un promotor, secuencias de ácido nucleico que codifican para un agente terapéutico, una secuencia de poliA. En algunos aspectos, el vector, construcción o polinucleótido de AAV de la descripción comprende además un enlazador. En algunos aspectos, el vector, construcción o polinucleótido de AAV de la descripción comprende dos o más promotores.

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende un ácido nucleico que tiene una secuencia al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a SEQ ID NO: 67-75.

En algunos aspectos, el vector, construcción, polinucleótido o casete de expresión de la descripción comprende una secuencia de ácido nucleico correspondiente a SEQ ID NO: 52-75.

En algunos aspectos, el vector o construcción de la descripción comprende una estructura principal, por ejemplo, que incluye el origen de replicación (oriR) y/o el gen de resistencia a antibióticos. En algunos aspectos, la estructura principal comprende un origen de replicación del gen de la colicina E1 (ColE1) y/o un gen de resistencia a la

kanamicina (KanR). En algunos aspectos, la estructura principal es adecuada para usarse en un vector de carga útil de AAV (por ejemplo, que comprende un casete de expresión flanqueado por ITR 5' y 3'). En algunos aspectos, la estructura principal puede ser una estructura principal puc57 o una versión modificada de la misma. En algunos aspectos, la estructura principal comprende una secuencia de relleno.

VI.A.2. Repeticiones Terminales Invertidas (ITR)

En algunos aspectos, los vectores de AAV (por ejemplo, vectores de rAAV) de la presente descripción comprenden un genoma viral con al menos una región de ITR y una región de carga útil, por ejemplo, un polinucleótido que codifica para una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión de anticuerpos descrito en la presente. En algunos aspectos, el vector de AAV tiene dos ITR (es decir, un par de ITR). Estas dos ITR flanquean la región de carga útil (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpos) en los extremos 5' y 3'. Las ITR funcionan como orígenes de replicación que comprenden sitios de reconocimiento para la replicación. Las ITR comprenden regiones de secuencia, que pueden ser complementarias y estar dispuestas simétricamente. Las ITR incorporadas en vectores

de AAV de la descripción pueden comprender secuencias de polinucleótidos de origen natural o secuencias de polinucleótidos derivadas de forma recombinante.

Las ITR pueden derivar del mismo serotipo que la cápside, seleccionado de cualquiera de los serotipos listados en la presente, o un derivado de los mismos. La ITR puede ser de un serotipo diferente de la cápside. En algunos aspectos, el vector de AAV tiene más de una ITR. En un ejemplo no limitante, el vector de AAV tiene un genoma viral que comprende dos ITR. En algunos aspectos, las ITR son del mismo serotipo entre sí. En algunos aspectos, las ITR son de diferentes serotipos. Los ejemplos no limitantes incluyen cero, una o ambas de las ITR que tienen el mismo serotipo que la cápside. En algunos aspectos, ambas ITR del vector de AAV son ITR de AAV2.

Independientemente, cada ITR puede tener una longitud de aproximadamente 75 a aproximadamente 175 nucleótidos. Una ITR puede tener aproximadamente 100-105 nucleótidos de longitud, aproximadamente 106-110 nucleótidos de longitud, aproximadamente 111-115 nucleótidos de longitud, aproximadamente 116-120 nucleótidos de longitud, aproximadamente 121-125 nucleótidos de longitud, aproximadamente 126-130 nucleótidos de longitud, aproximadamente 131-135 nucleótidos de longitud, aproximadamente 136-140 nucleótidos de longitud,

aproximadamente 141-145 nucleótidos de longitud o aproximadamente 146-150 nucleótidos de longitud. En algunos aspectos, las ITR tienen aproximadamente 140-142 nucleótidos de longitud. Los ejemplos no limitantes de longitud de ITR son aproximadamente 102, aproximadamente 140, aproximadamente 141, aproximadamente 142, aproximadamente 145 nucleótidos de longitud, y aquellos que tienen al menos 95% de identidad con estos.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse cerca del extremo 5’ de la ITR flip en el vector. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse cerca del extremo 3’ de la ITR flip en el vector. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del

mismo, que puede ubicarse cerca del extremo 5’ de la ITR flop en el vector. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse cerca del extremo 3’ de la ITR flop en el vector. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse entre el extremo 5’ de la ITR flip y el extremo 3' de la ITR flop en el vector. En algunos aspectos, el vector de AAV es una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse entre (por ejemplo, a medio camino entre el extremo 5’ de la ITR flip y el extremo 3' de la ITR flop o el extremo 3 'de la ITR flop y el extremo 5' de la ITR flip), el extremo 3’ de la ITR flip y el extremo 5' de la ITR flip en el vector.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente

terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse dentro de aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9, aproximadamente 10, aproximadamente 11, aproximadamente 12, aproximadamente 13, aproximadamente 14, aproximadamente 15, aproximadamente 16, aproximadamente 17, aproximadamente 18, aproximadamente 19, aproximadamente 20, aproximadamente 21, aproximadamente 22, aproximadamente 23, aproximadamente 24, aproximadamente 25, aproximadamente 26, aproximadamente 27, aproximadamente 28, aproximadamente 29, aproximadamente 30 o más de aproximadamente 30 nucleótidos en dirección 5’ o en dirección 3’ del extremo 5' o 3' de una ITR (por ejemplo, ITR Flip o Flop) en el vector.

Como otro ejemplo no limitante, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse dentro de aproximadamente 1-5, aproximadamente 1-10, aproximadamente 1-15, aproximadamente 1-20, aproximadamente 1-25, aproximadamente 1-30, aproximadamente 5-10,

aproximadamente 5-15, aproximadamente 5-20, aproximadamente 5-25, aproximadamente 5-30, aproximadamente 10-15, aproximadamente 10-20, aproximadamente 10-25, aproximadamente 10-30, aproximadamente 15-20, aproximadamente 15-25, aproximadamente 15-30, aproximadamente 20-25, aproximadamente 20-30 o aproximadamente 25-30 nucleótidos en dirección 5’ o en dirección 3’ del extremo 5' o 3' de una ITR (por ejemplo, ITR Flip o Flop) en el vector.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse. dentro del primer aproximadamente 1%, aproximadamente 2%, aproximadamente 3%, aproximadamente 4%, aproximadamente 5%, aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 8%, aproximadamente 9%, aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25% o más de aproximadamente 25% de los nucleótidos en dirección 3’ del extremo 5' o 3' de una ITR (por ejemplo, ITR Flip o Flop) en el vector.

Como otro ejemplo no limitante, el vector de AAV comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico, por ejemplo, un anticuerpo terapéutico, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que puede ubicarse

con el primero aproximadamente 1-5%, aproximadamente 1-10%, aproximadamente 1-15%, aproximadamente 1-20%, aproximadamente 1-25%, aproximadamente 5-10%, aproximadamente 5-15%, aproximadamente 5-20%, aproximadamente 5-25%, aproximadamente 10-15%, aproximadamente 10-20%, aproximadamente 10-25%, aproximadamente 15-20%, aproximadamente 15-25% o aproximadamente 20-25% en dirección 5’ del extremo 5' o 3' de una ITR (por ejemplo, ITR Flip o Flop) en el vector.

En algunos aspectos, las ITR 5' y 3' comprenden una ITR 5’ y una ITR 3’ descritas en la Tabla 16. En algunos aspectos, las ITR 5’ y 3’ comprenden SEQ ID NO: 143 y 144, respectivamente.

VI.A.3. Promotores y Potenciadores

En algunos aspectos, la región de carga útil del vector de AAV comprende al menos un elemento para mejorar la especificidad y/o expresión del ácido nucleico. Los ejemplos no limitantes de elementos para mejorar la especificidad y expresión del ácido nucleico incluyen, por ejemplo, promotores, miARN endógenos, elementos reguladores postranscripcionales (PRE), secuencias de señal de poliadenilación (Poli A) y potenciadores en dirección 3’ (USE), potenciadores de CMV e intrones. En algunos aspectos, el potenciador es un potenciador de CMV.

La expresión del ácido nucleico de la presente descripción después de la administración o integración en el

ADN genómico de una célula diana puede requerir un promotor específico, que incluye, pero no se limita a, un promotor que es específico de especie, inducible, específico de tejido o específico de ciclo celular (Parr *et al*., Nat. Med.3: 1145-9 (1997); cuyo contenido se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad).

En algunos aspectos, se considera que el promotor es eficiente cuando dirige la expresión del ácido nucleico que codifica la proteína de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo), que se transporta en la región de carga útil del vector de AAV. En algunos aspectos, el promotor es un promotor que se considera eficiente cuando dirige la expresión de la proteína de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo), en donde la célula a la que se dirige es una célula oftálmica (es decir, ocular o periocular).

Los promotores pueden ser de origen natural o no natural. Los ejemplos no limitantes de promotores incluyen promotores virales y promotores de mamíferos. En algunos aspectos, los promotores pueden ser promotores humanos. En algunos aspectos, el promotor puede estar truncado. Los promotores que impulsan o promueven la expresión en la

mayoría de los tejidos incluyen, pero no se limitan a, potenciador y/o promotor inmediato-temprano de citomegalovirus (CMV), β-actina de pollo (CBA) y su derivado CAG, β glucuronidasa (GUSB) o ubiquitina C (UBC). En algunos aspectos, el promotor es un potenciador temprano de CMV/promotor de β actina de pollo (CAG), CAG, CBA, smCBA, CMV, subunidad la del factor de elongación humano (EF1α), EF1α con un potenciador de CMV, un promotor de CMV con un potenciador de CMV (CMVe/p), un promotor de CMV con un intrón de SV40, o un promotor específico de tejido.

En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CAG, CBA o smCBA. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CAG (por ejemplo, SEQ ID NO: 155). En algunos aspectos, el promotor es un promotor de smCBA (por ejemplo, SEQ ID NO: 145).

En algunos aspectos, el promotor específico de tejido es un promotor específico de tejido ocular. En algunos aspectos, el promotor específico de tejido ocular es un promotor de rodopsina cinasa humana (GRK1), un promotor de detención de cono de ratón (CAR) o un promotor de opsina roja humana (RedO).

En algunos aspectos, los elementos de expresión específicos de tejido se pueden usar para restringir la expresión a determinados tipos de células.

Los ejemplos no limitantes de promotores específicos

de músculo incluyen promotor de creatina cinasa muscular de mamífero (MCK), promotor de desmina de mamífero (DES), promotor de HSA, promotor de HMCK7, promotor de dMCK, promotor de tMCK, promotor de CK8e, promotor de SPc5-12, el promotor de SP-301, promotor de MH, promotor de Sk-CRM o promotor de Sk-CRM4, promotor de troponina I de mamífero (TNNI2) y promotor de alfa-actina esquelética de mamífero (ASKA) (ver, por ejemplo, Publicación de Patente de los Estados Unidos US 20110212529, cuyo contenido se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad). Los ejemplos no limitantes de elementos de expresión específicos de tejido para neuronas incluyen enolasa específica de neurona (NSE), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), cadena B del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-β), sinapsina (Syn), proteína de unión a metil-CpG 2 (MeCP2), proteína cinasa II dependiente de Ca2+/calmodulina (CaMKII), receptor de glutamato metabotrópico 2 (mGluR2), promotores de neurofilamento ligero (NFL) o pesado (NFH), minigén de β-globina ηβ2, preproencefalina (PPE), encefalina (Enk) y transportador de aminoácidos, excitador 2 (EAAT2). Los ejemplos no limitantes de elementos de expresión específicos de tejido para astrocitos incluyen proteína ácida fibrilar glial (GFAP) y promotores EAAT2.

Un ejemplo no limitante de un elemento de expresión

específico de tejido para oligodendrocitos incluye el promotor de la proteína básica de mielina (MBP).

Los ejemplos no limitantes de elementos de expresión específicos de tejido para fibroblastos incluyen un promotor de proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 2 (IGFBP2), un promotor de proteína de activación de fibroblastos (FAP) y un promotor de proteína específica de fibroblastos 1 (FSP1).

Los ejemplos no limitantes de elementos de expresión específicos de tejido para adipocitos incluyen un promotor de adiponectina y un promotor de proteína de unión a ácidos grasos (AP2) de adipocitos.

En algunos aspectos, el promotor es un promotor inducible. En algunos aspectos, el promotor es un promotor bidireccional.

En algunos aspectos, el promotor puede ser una combinación de dos o más componentes del mismo o diferente promotor de inicio o parental tal como, pero no limitado a, CMV, CAG, EF1a y CBA. En algunos aspectos, el promotor es un potenciador temprano de CMV/promotor de β actina de pollo (CAG), CAG, CBA, CMV, EF1α, EF1α con un potenciador de CMV, un promotor de CMV con un potenciador de CMV (CMVe/p), un promotor de CMV con un intrón de SV40.

En algunos aspectos, la combinación de promotores comprende un potenciador de CMV, un promotor de CBA y un

intrón de CAG.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un promotor ubicuo. Los ejemplos no limitantes de promotores ubicuos incluyen, por ejemplo, CMV, CBA (incluyendo derivados CAG, CBh, etc.), EF-la, PGK, UBC, GUSB (hGBp) y UCOE (promotor de HNRPA2B1-CBX3).

En algunos aspectos, el promotor no es específico de la célula. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de ubiquitina c (UBC). El promotor UBC puede tener un tamaño de 300-350 nucleótidos. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de β-glucuronidasa (GUSB). En algunos aspectos, el promotor es un promotor de luz de neurofilamento (NFL). En algunos aspectos, la construcción puede ser el promotor de AAV-CMV/polinucleótido modulador de intrones de globina-RBG, donde el AAV puede ser autocomplementario y el AAV puede ser el serotipo DJ.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un promotor Pol III. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un promotor PI. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un promotor FXN. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de fosfoglio cerato cinasa 1 (PGK). En algunos aspectos, el promotor es un promotor de β-actina de pollo (CBA). En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CAG que es una construcción que comprende el potenciador de citomegalovirus (CMV) fusionado al promotor de

beta-actina de pollo (CBA) con un intrón quimérico. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de citomegalovirus (CMV). En algunos aspectos, el promotor es un promotor EF1α. En algunos aspectos, el promotor es un promotor EF1α fusionado a un potenciador de CMV. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CMV fusionado a un potenciador de CMV. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CMV fusionado a un intrón de SV40. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un promotor H1.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un elemento potenciador, un promotor y/o un intrón 5' UTR. El elemento potenciador, también denominado en la presente "potenciador", puede ser, pero no se limita a, un potenciador de CMV, el promotor puede ser, pero no se limita a, un promotor EF1α, CMV, CBA, UBC, GUSB, NSE, Sinapsina, MeCP2 y GFAP y el intrón/UTR 5’ puede ser, pero no se limita a, SV40, CAG, CBA-MVM (virus minuto de ratones), β-globina humana, cadena pesada de inmunoglobulina, una quimera entre el gen de la β-globina humana y la cadena pesada de inmunoglobulina. En algunos aspectos, el potenciador es un potenciador de CMV. En algunos aspectos, el potenciador, promotor y/o intrón usado en combinación puede ser: (1) potenciador de CMV, promotor de CMV, intrón de UTR 5' de SV40; (2) potenciador de CMV, promotor de CBA, intrón de UTR 5’ de SV40; (3) potenciador de CMV, promotor de CBA, intrón UTR 5' de CBA-MVM; (4) promotor

de UBC; (5) promotor de GUSB; (6) promotor de NSE; (7) promotor de Sinapsina; (8) promotor de MeCP2, (9) promotor de GFAP, (10) promotor de H1; (11) promotor de U6; (12) promotor de CMV, potenciador de CMV; (13) promotor de EF1α, potenciador de CMV; o (14) promotor de CMV, intrón de SV40; (15) intrón de β-globina humana y quimera de intrón de cadena pesada de inmunoglobina, promotor de EF1α, potenciador de CMV, promotor de CMV, intrón de SV40. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de citomegalovirus (CMV). En algunos aspectos, el intrón es un intrón SV40, intrón MVM o un intrón de betaglobina humana en el vector. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CBA. En algunos aspectos, el promotor es un promotor EF1α. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CMV fusionado a un potenciador de CMV. En algunos aspectos, el promotor es un potenciador de CMV fusionado a un promotor EF1α. En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CMV fusionado a un intrón de SV40. En algunos aspectos, el vector AA comprende un promotor modificado genéticamente. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un potenciador temprano de CMV/promotor de β actina de pollo (CAG). En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un promotor de una proteína expresada de forma natural.

VI.A.4. Regiones No Traducidas (UTR)

Las regiones no traducidas (UTR, por sus siglas en

inglés) de tipo silvestre de un gen se transcriben pero no se traducen. En general, la UTR 5’ inicia en el sitio de inicio de la transcripción y termina en el codón de inicio y la UTR 3' inicia inmediatamente después del codón de terminación y continúa hasta la señal de terminación para la transcripción.

Las características que se encuentran habitualmente en genes expresados abundantemente de órganos diana específicos se pueden modificar genéticamente en UTR para mejorar la estabilidad y producción del producto transcrito.

Las regiones 5' no traducidas (UTR) de tipo silvestre incluyen características que desempeñan funciones en el inicio de la traducción. Las secuencias de Kozak, que comúnmente se sabe que están involucradas en el proceso por el cual el ribosoma inicia la traducción de muchos genes, generalmente se incluyen en las UTR 5'. Las secuencias de Kozak tienen el consenso CCR(R)CCAUGG, donde R es una purina (adenina o guanina) tres bases en dirección 3’ del codón de inicio (ATG), que es seguido por otro 'G. En algunos aspectos, la UTR 5'en un vector de AAV de la presente descripción incluye una secuencia de Kozak. En algunos aspectos, la UTR 5'en un vector de AAV de la presente descripción no incluye una secuencia de Kozak.

Se sabe que las UTR 3’ de tipo silvestre tienen tramos de adenosinas y uridinas incrustadas en ellas. Estas firmas ricas en AU son particularmente prevalentes en genes

con altas velocidades de rotación. En función de sus características de secuencia y propiedades funcionales, los elementos ricos en AU (are) se pueden separar en tres clases (Chen *et al*, 1995, cuyo contenido se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad). Los are de clase I, tal como, pero no limitados a, c-Myc y MyoD, contienen varias copias dispersas de un motivo AUUUA dentro de las regiones ricas en U. Los ARE de clase II, tal como, pero no limitados a, GM-CSF y TNF-α, poseen dos o más nonámeros UUAUUUA(U/A)(U/A) superpuestos. Los ARES de clase III, tal como, pero no limitados a, c-Jun y miogenina, están menos bien definidos. Estas regiones ricas en U no contienen un motivo AUUUA. Se sabe que la mayoría de las proteínas que se unen a los are desestabilizan el mensajero, mientras que se ha documentado que los miembros de la familia ELAV, especialmente HuR, aumentan la estabilidad del ARNm. HuR se une a los are de las tres clases. Modificar genéticamente los sitios de unión específicos de HuR en la UTR 3’ de las moléculas de ácido nucleico conducirá a la unión de HuR y, por lo tanto, a la estabilización del mensaje *in vivo*.

La introducción, remoción o modificación de elementos ricos en UTR AU 3' (ARE) se puede usar para modular la estabilidad de los polinucleótidos. Cuando se modifican genéticamente polinucleótidos específicos, por ejemplo, regiones de carga útil de genomas virales, SE pueden

introducir una o más copias de un ARE para hacer que los polinucleótidos sean menos estables y, de esta manera, reducir la traducción y disminuir la producción de la proteína resultante. Del mismo modo, los are se pueden identificar y remover o mutar para aumentar la estabilidad intracelular y, por lo tanto, aumentar la traducción y la producción de la proteína resultante.

En algunos aspectos, la UTR 3'de un vector de AAV de la presente descripción puede incluir una secuencia de oligo(dT) para la adición de una cola de poli-A. En algunos aspectos, un vector de AAV de la presente descripción puede incluir al menos una semilla de miARN, sitio de unión o secuencia completa. Los microARN (o miARN o miR) son ARN no codificantes de 19-25 nucleótidos que se unen a los sitios de las dianas de ácido nucleico y regulan negativamente la expresión génica, ya sea reduciendo la estabilidad de la molécula de ácido nucleico o inhibiendo la traducción. Una secuencia de microARN comprende una región "semilla", es decir, una secuencia en la región de las posiciones 2-8 del microARN maduro, cuya secuencia tiene una complementariedad Watson-Crick perfecta con la secuencia diana de miARN del ácido nucleico.

En algunos aspectos, un vector de AAV de la presente descripción puede modificarse genéticamente para incluir, alterar o remover al menos un sitio de unión, secuencia o

región semilla de miARN.

Cualquier UTR de cualquier gen conocido en la técnica se puede incorporar en un vector de AAV de la presente descripción. Estas UTR, o partes de las mismas, se pueden colocar en la misma orientación que en el gen del que se seleccionaron o se pueden alterar en orientación o ubicación. En algunos aspectos, la UTR usada en un vector de AAV de la presente descripción se puede invertir, acortar, alargar, hacer con una o más UTR 5’ o 3' conocidas en la técnica. Como se usa en la presente, el término "alterado" en lo que se refiere a una UTR, significa que la UTR se ha cambiado de alguna manera en relación con una secuencia de referencia. Por ejemplo, una UTR 3' o 5' se puede alterar con respecto a una UTR de tipo silvestre o nativa mediante el cambio en la orientación o ubicación como se enseñó anteriormente o se puede alterar mediante la inclusión de nucleótidos adicionales, supresión de nucleótidos, intercambio o transposición de nucleótidos. En algunos aspectos, un vector de AAV de la presente descripción comprende al menos una UTR artificial, que no es una variante de una UTR de tipo silvestre. En algunos aspectos, un vector de AAV de la presente descripción comprende UTR, que se han seleccionado de una familia de transcritos cuyas proteínas comparten una función, estructura, característica o propiedad común.

VI.A.5. Secuencia de Poliadenilación

En algunos aspectos, los vectores de AAV o casetes de expresión de la presente descripción comprenden al menos una secuencia de poliadenilación. Los vectores de AAV de la presente descripción pueden comprender una secuencia de poliadenilación entre el extremo 3’ de la secuencia de codificación de carga útil y el extremo 5' de la ITR 3'.

En algunos aspectos, la secuencia de poliadenilación o "secuencia de poliA" puede variar de ausente a aproximadamente 500 nucleótidos de longitud.

En algunos aspectos, la secuencia de poliadenilación es de aproximadamente 10-100, aproximadamente 10-90, aproximadamente 10-80, aproximadamente 10-70, aproximadamente 10-60, aproximadamente 10-55, aproximadamente 10-50, aproximadamente 20-100, aproximadamente 20-90, aproximadamente 20-80, aproximadamente 20-70, aproximadamente 20-60, aproximadamente 20-55, aproximadamente 20-50, aproximadamente 30-100, aproximadamente 30-90, aproximadamente 30-80, aproximadamente 30-70, aproximadamente 30-60, aproximadamente 30-55, aproximadamente 30-50, aproximadamente 40-100, aproximadamente 40-90, aproximadamente 40-80, aproximadamente 40-70, aproximadamente 40-60, aproximadamente 40-55, aproximadamente 40-50, aproximadamente 45-100, aproximadamente 45-90, aproximadamente 45-80, o aproximadamente 45-70

aproximadamente 45-60, aproximadamente 45-55, aproximadamente 45-50 nucleótidos de longitud.

En algunos aspectos, el vector de AAV o casete de expresión comprende un ácido nucleico que codifica para una proteína de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo), que puede ubicarse en dirección 5 'de la secuencia de poliadenilación en el vector. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un ácido nucleico que codifica para una proteína de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo), que puede ubicarse en dirección 5’ de un promotor tal como, pero no limitado a, EF1α, CMV, U6, CAG, CBA EF1α con un potenciador de CMV, promotor de CMV con un intrón de SV40, promotor de CMV con un potenciador de CMV o un promotor de CBA con un intrón de SV40, intrón de MVM, un intrón de betaglobina humana, intrón de cadena pesada de inmunoglobulina o una quimera de un intrón de betaglobina humana y un intrón de cadena pesada de inmunoglobulina en el vector.

En algunos aspectos, el vector de AAV o casete de expresión comprende un ácido nucleico que codifica para una proteína de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un

fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo), que puede ubicarse dentro de aproximadamente 1-5, aproximadamente 1-10, aproximadamente 1-15, aproximadamente 1-20, aproximadamente 1-25, aproximadamente 1-30, aproximadamente 5-10, aproximadamente 5-15, aproximadamente 5-20, aproximadamente 5-25, aproximadamente 5-30, aproximadamente 10-15, aproximadamente 10-20, aproximadamente 10-25, aproximadamente 10-30, aproximadamente 15-20, aproximadamente 15-25, aproximadamente 15-30, aproximadamente 20-25, aproximadamente 20-30 o aproximadamente 25-30 nucleótidos en dirección 5’ del promotor y/o en dirección 3’ de la secuencia de poliadenilación en el vector.

En algunos aspectos, el vector de AAV o casete de expresión comprende una secuencia señal de poliadenilación de globina de conejo (poli A). En algunos aspectos, el vector de AAV o casete de expresión comprende una secuencia señal de poliadenilación (poli A) de la hormona del crecimiento humana. En algunos aspectos, el vector de AAV o casete de expresión comprende una secuencia señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento humana (poli A) (hGHpA). En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento bovina (poli A) (bGHpA). En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia señal de poliadenilación (poli A)

(SYNpA) sintética (SYN).

VI.A.6. Intrones

En algunos aspectos, la región de carga útil de un vector de AAV de la presente descripción comprende al menos un elemento para mejorar la expresión, tal como uno o más intrones o partes de los mismos. Los ejemplos no limitantes de intrones incluyen MVM (67-97 pb), intrón truncado F.IX 1 (300 pb), SD de β-globina/aceptor de empalme de cadena pesada de inmunoglobulina (250 pb), donante de empalme de adenovirus/aceptor de empalme de inmunoglobulina (500 pb), donante de empalme tardío/aceptor de empalme SV40 (19S/16S) (180 pb) y donante de empalme de adenovirus híbrido/aceptor de empalme IgG (230 pb). En algunos aspectos, los ejemplos no limitantes de intrones incluyen, pero no se limitan a, intrón SV40, intrón CAG o un intrón quimérico que puede ser una quimera de un intrón de betaglobina humana y un intrón de cadena pesada de inmunoglobulina humana.

En algunos aspectos, el intrón o porción de intrón puede tener entre aproximadamente 100 y aproximadamente 500 nucleótidos de longitud. En algunos aspectos, el intrón puede tener una longitud de entre aproximadamente 80-100, aproximadamente 80-120, aproximadamente 80-140, aproximadamente 80-160, aproximadamente 80-180, aproximadamente 80-200, aproximadamente 80-250, aproximadamente 80-300, aproximadamente 80-350,

aproximadamente 80-400, aproximadamente 80-450, aproximadamente 80-500, aproximadamente 200-300, aproximadamente 200-400, aproximadamente 200-500, aproximadamente 300-400, aproximadamente 300-500 o aproximadamente 400-500 nucleótidos.

En algunos aspectos, el vector de AAV o casete de expresión puede comprender un intrón quimérico. En algunos aspectos, el vector de AAV o casete de expresión puede comprender un intrón SV40. En algunos aspectos, el vector o casete de expresión de AAV puede comprender un intrón de cadena pesada de inmunoglobulina. En algunos aspectos, el vector o casete de expresión de AAV puede comprender un intrón de betaglobina humana. En algunos aspectos, el vector o casete de expresión de AAV puede comprender una quimera de un intrón de betaglobina humana y un intrón de cadena pesada de inmunoglobulina.

En algunos aspectos, el agente terapéutico codificado de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) puede ubicarse en dirección 5’ de un promotor en un vector de expresión tal como, pero no limitado a, CMV, U6, HI, CBA, CAG o un promotor de CBA con un intrón tal como SV40, intrón MVM, un intrón de betaglobina humana, intrón de cadena pesada de inmunoglobulina humana, una quimera de un intrón de

betaglobina humana y un intrón de cadena pesada de inmunoglobulina humana, u otros conocidos en la técnica. En algunos aspectos, el intrón se selecciona del grupo que consiste en un intrón SV40, un intrón CAG, un intrón MVM, un intrón de betaglobina humana, un intrón de cadena pesada de inmunoglobulina humana o una quimera de un intrón de betaglobina humana y un intrón de cadena pesada de inmunoglobulina humana.

Además, el agente terapéutico codificado de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) también puede ubicarse en dirección 3’ de la secuencia de poliadenilación en un vector de expresión. En algunos aspectos, la proteína terapéutica codificada, por ejemplo, anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o fragmento de unión a antígeno del mismo o la proteína de fusión (por ejemplo, la proteína de fusión Fc) descrita en la presente, o péptido terapéutico puede ubicarse dentro de aproximadamente 1-5, aproximadamente 1-10, aproximadamente 1-15, aproximadamente 1-20, aproximadamente 1-25, aproximadamente 1-30, aproximadamente 5-10, aproximadamente 5-15, aproximadamente 5-20, aproximadamente 5-25, aproximadamente 5-30, aproximadamente 10-15, aproximadamente 10-20, aproximadamente 10-25, aproximadamente 10-30, aproximadamente 15-20, aproximadamente

15-25, aproximadamente 15-30, aproximadamente 20-25, aproximadamente 20-30 o aproximadamente 25-30 nucleótidos en dirección 5’ del promotor y/o en dirección 3’ de la secuencia de poliadenilación en el vector.

VI.A.7. Secuencias de Relleno

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una o más secuencias de relleno (también denominadas "secuencias de relleno"). En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una o más secuencias de relleno para que la longitud del vector de AAV sea el tamaño óptimo para el empaquetado. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno para que la longitud del vector de AAV sea de aproximadamente 2.0-2.5 kb, por ejemplo, aproximadamente 2.3 kb. En algunos aspectos, la estructura principal del vector comprende una secuencia de relleno.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una o más secuencias de relleno para reducir la probabilidad de que una estructura en horquilla del genoma del vector (por ejemplo, un polinucleótido modulador descrito en la presente) se pueda leer como una repetición terminal invertida (ITR) durante la expresión y/o el empaquetamiento.

En algunos aspectos, el vector de AAV es un vector de AAV de hebra individual (ss) y comprende una o más secuencias de relleno que tienen una longitud de aproximadamente entre 0.1 kb y aproximadamente 3.8 kb.

En algunos aspectos, el vector de AAV es un vector de AAV autocomplementario (sc) y comprende una o más secuencias de relleno que tienen una longitud de aproximadamente entre aproximadamente 0.1 kb y aproximadamente 1.5 kb.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende cualquier parte de una secuencia de relleno. El vector puede comprender, por ejemplo, aproximadamente 1%, aproximadamente 2%, aproximadamente 3%, aproximadamente 4%, aproximadamente 5%, aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 8%, aproximadamente 9%, aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 55%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95% o aproximadamente 99% de una secuencia de relleno.

En algunos aspectos, el vector de AAV es un vector de AAV de hebra individual (ss) y comprende una o más secuencias de relleno para que la longitud del vector de AAV sea de aproximadamente 4.6 kb. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno y la secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia de ITR 5'. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia

de relleno y la secuencia de relleno se encuentra 5' con respecto a una secuencia promotora. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno y la secuencia de relleno se encuentra 3' con respecto a la secuencia de señal de poliadenilación. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno y la secuencia de relleno se encuentra 5' a la secuencia de ITR 3'. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno, y la secuencia de relleno se encuentra entre dos secuencias de intrones. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno, y la secuencia de relleno se encuentra dentro de una secuencia de intrones. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende dos secuencias de relleno, y la primera secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia ITR 5' y la segunda secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende dos secuencias de relleno, y la primera secuencia de relleno se encuentra 5' a una secuencia promotora y la segunda secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende dos secuencias de relleno, y la primera secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia ITR 5' y la segunda secuencia de relleno se encuentra 5' a la secuencia ITR 5'.

En algunos aspectos, el vector de AAV es un vector de AAV autocomplementario (sc) y comprende una o más secuencias de relleno para que la longitud del vector de AAV sea de aproximadamente 2.3 kb. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno y la secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia de ITR 5'. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno y la secuencia de relleno se encuentra 5' con respecto a una secuencia promotora. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno y la secuencia de relleno se encuentra 3' con respecto a la secuencia de señal de poliadenilación. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno y la secuencia de relleno se encuentra 5' a la secuencia de ITR 3'.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno, y la secuencia de relleno se encuentra entre dos secuencias de intrones. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende al menos una secuencia de relleno, y la secuencia de relleno se encuentra dentro de una secuencia de intrones. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende dos secuencias de relleno, y la primera secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia ITR 5' y la segunda secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, el

vector de AAV comprende dos secuencias de relleno, y la primera secuencia de relleno se encuentra 5' a una secuencia promotora y la segunda secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende dos secuencias de relleno, y la primera secuencia de relleno se encuentra 3' a la secuencia ITR 5' y la segunda secuencia de relleno se encuentra 5' a la secuencia ITR 5'.

En algunos aspectos, el vector de AAV puede comprender una o más secuencias de relleno entre una o más regiones del vector de AAV. En algunos aspectos, la región de relleno puede ubicarse antes de una región tal como, pero no limitada a, una región de carga útil, una ITR, una región promotora, una región de intrones, una región potenciadora y/o una región de secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, la región de relleno puede ubicarse después de una región tal como, pero no limitada a, una región de carga útil, una ITR, una región promotora, una región de intrones, una región potenciadora y/o una región de secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, la región de relleno puede ubicarse antes y después de una región tal como, pero no limitada a, una región de carga útil, una ITR, una región promotora, una región de intrones, una región potenciadora y/o una región de secuencia señal de poliadenilación.

En algunos aspectos, el vector de AAV puede comprender una o más secuencias de relleno que bifurcan al menos una región del vector de AAV. La región bifurcada del vector de AAV puede comprender aproximadamente 1%, aproximadamente 2%, aproximadamente 3%, aproximadamente 4%, aproximadamente 5%, aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 8%, aproximadamente 9%, aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 55%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95% o aproximadamente 99% de la región a 5' de la región de secuencia de relleno.

En algunos aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una región de modo que aproximadamente el 10% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 90% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno. En algunos aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una región de modo que aproximadamente el 20% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 80% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno. En algunos aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una

región de modo que aproximadamente el 30% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 70% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno. En algunos aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una región de modo que aproximadamente el 40% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 60% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno. En algunos aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una región de modo que aproximadamente el 50% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 50% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno. En algunos aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una región de modo que aproximadamente el 60% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 40% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno. En algunos aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una región de modo que aproximadamente el 70% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 30% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno. En algunos aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una región de modo que aproximadamente el 80% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 20% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno. En algunos

aspectos, la secuencia de relleno puede bifurcar al menos una región de modo que aproximadamente el 90% de la región se encuentre a 5’ de la secuencia de relleno y aproximadamente el 10% de la región se encuentre a 3' de la secuencia de relleno.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno después de la ITR 5'. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno después de la región promotora. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno después de la región de carga útil. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno después de la región de intrones. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno después de la región potenciadora. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno después de la región de la secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno antes de la región promotora. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno antes de la región de carga útil. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno antes de la región de intrones.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno antes de la región potenciadora. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de

relleno antes de la región de la secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de relleno antes de la ITR 3'. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la ITR 5' y la región promotora. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la ITR 5' y la región de carga útil.

En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la ITR 5' y la región de intrones. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la ITR 5' y la región potenciadora. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la ITR 5' y la región de secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, una secuencia de relleno se puede ubicar entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región promotora y la región de carga útil.

En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región promotora y la región de intrones. En algunos aspectos, una secuencia de relleno se puede ubicar entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región promotora y la región potenciadora. En algunos aspectos, una secuencia de

relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región promotora y la región de la secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región promotora y la ITR 3'.

En algunos aspectos, una secuencia de relleno se puede ubicar entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región de carga útil y la región de intrones. En algunos aspectos, una secuencia de relleno se puede ubicar entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región de carga útil y la región potenciadora. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región de carga útil y la región de secuencia de señal de poliadenilación. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región de carga útil y la ITR 3'.

En algunos aspectos, una secuencia de relleno se puede ubicar entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región de intrones y la región potenciadora. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región de intrón y la región de secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región de intrones

y la ITR 3'. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región potenciadora y la región de la secuencia señal de poliadenilación. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región potenciadora y la ITR 3'. En algunos aspectos, una secuencia de relleno puede ubicarse entre dos regiones, tal como, pero no limitado a, la región de la secuencia señal de poliadenilación y la ITR 3'.

En algunos aspectos, un vector de AAV puede comprender dos secuencias de relleno. Las dos secuencias de relleno pueden ubicarse entre dos regiones como se describe en la presente.

VI.A.8. Método para Producir AAV Recombinante

La presente descripción también proporciona métodos para la generación de partículas de AAV, mediante replicación del genoma viral en una célula de replicación viral que comprende poner en contacto la célula de replicación viral con un polinucleótido de AAV o genoma de AAV (por ejemplo, un vector de AAV de la presente descripción). En el contexto de la presente descripción, los vectores de AAV descritos en la presente, por ejemplo, vectores de AAV que comprenden al menos un polinucleótido (por ejemplo, un casete de expresión) que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del

mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) se consideran vectores de construcción de carga útil de AAV.

En algunos aspectos, una partícula de AAV se produce mediante un método que comprende los pasos de: (1) cotransfectar células bacterianas competentes con un vector bácmido y un vector de construcción viral y/o un vector de construcción de carga útil de AAV, (2) aislar el vector de expresión de construcción viral resultante y el vector de expresión de construcción de carga útil de AAV y transfectar por separado las células de replicación viral, (3) aislar y purificar la carga útil resultante y las partículas de construcción viral que comprenden el vector de expresión de construcción viral o el vector de expresión de construcción de carga útil de AAV, (4) coinfectar una célula de replicación viral con la carga útil de AAV y las partículas de construcción viral que comprenden el vector de expresión de construcción viral o el vector de expresión de construcción de carga útil de AAV, y (5) recolectar y purificar la partícula viral que comprende un genoma parvoviral.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para producir una partícula de AAV que comprende los pasos de (1) cotransfectar simultáneamente células de mamífero, tal como, pero no limitado a células HEK293, con

una región de carga útil (por ejemplo, polinucleótido que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo)), una construcción que expresa genes rep y cap y una construcción auxiliar, y (2) recolectar y purificar la partícula de AAV que comprende un genoma viral.

En algunos aspectos, las partículas de AAV se pueden producir en una célula de replicación viral que comprende una célula de insecto. Las condiciones de crecimiento para las células de insecto en cultivo y la producción de productos heterólogos en células de insecto en cultivo son bien conocidas en la técnica, ver, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos Núm. 6 204 059.

La célula de replicación viral se puede seleccionar de cualquier organismo biológico, que incluye células procariotas (por ejemplo, bacterianas) y células eucariotas, que incluyen células de insecto, células de levadura y células de mamífero. Las células de replicación viral pueden comprender células de mamífero tal como A549, WEH1, 3T3, 10T1/2, BHK, MDCK, COS 1, COS 7, BSC 1, BSC 40, BMT 10, VERO. W138, HeLa, HEK293, Saos, C2C12, células L, HT1080, HepG2 y fibroblastos primarios, hepatocitos y mioblastos derivados de mamíferos. Las células de replicación viral comprenden células derivadas de especies de mamíferos que incluyen, pero

no se limitan a, ser humano, mono, ratón, rata, conejo y hámster o tipo celular, que incluyen pero no se limitan a fibroblasto, hepatocito, célula tumoral, célula transformada de línea celular, etc.

La producción viral descrita en la presente describe procesos y métodos para producir partículas de AAV que entran en contacto con una célula diana para administrar una carga útil, por ejemplo, una construcción viral recombinante, que comprende una secuencia de polinucleótidos (por ejemplo, un casete de expresión) que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo).

En algunos aspectos, las partículas de AAV se pueden producir en una célula de replicación viral que comprende una célula de mamífero. Las células de replicación viral comúnmente usadas para la producción de partículas de AAV recombinante incluyen, pero no se limitan a, células 293, células COS, células HeLa y células KB.

En algunos aspectos, las partículas de AAV se producen en células de mamífero en donde las tres proteínas VP se expresan a una estequiometría que se aproxima a 1:1:10 (VP1:VP2:VP3). Los mecanismos reguladores que permiten este nivel controlado de expresión incluyen la producción de dos ARNm, uno para VP1 y el otro para VP2 y VP3, producidos por

corte y empalme diferencial.

En algunos aspectos, las partículas de AAV se producen en células de mamífero usando un método de transfección triple en donde una construcción de carga útil, Rep parvoviral y Cap parvoviral y una construcción auxiliar están comprendidas dentro de tres construcciones diferentes. El método de transfección triple de los tres componentes de la producción de partículas de AAV se puede usar para producir pequeños lotes de virus para ensayos que incluyen la eficiencia de transducción, la evaluación del tejido diana (tropismo) y la estabilidad.

En algunos aspectos, el vector de construcción viral y el vector de construcción de carga útil de AAV pueden incorporarse cada uno mediante un sistema donador/aceptor de transposones en un bácmido, también conocido como plásmido de baculovirus, mediante técnicas de biología molecular estándar conocidas y realizadas por un experto en la técnica. La transfección de poblaciones de células de replicación viral separadas produce dos baculovirus, uno que comprende el vector de expresión de la construcción viral y otro que comprende el vector de expresión de la construcción de carga útil de AAV. Los dos baculovirus se pueden usar para infectar una población de células de replicación viral, individual para la producción de partículas de AAV.

Los vectores de expresión de baculovirus para

producir partículas virales en células de insecto, que incluyen, pero no se limitan a, células de *Spodoptera frugiperda* (Sf9), proporcionan altos títulos de producto de partícula viral. El baculovirus recombinante que codifica el vector de expresión de la construcción viral y el vector de expresión de la construcción de carga útil de AAV inicia una infección productiva de células de replicación viral. Las partículas de baculovirus infecciosas liberadas de la infección primaria infectan secundariamente células adicionales en el cultivo, infectando exponencialmente toda la población de cultivo celular en una cantidad de ciclos de infección que es una función de la multiplicidad inicial de infección, ver, por ejemplo, Urabe, M. *et al*., *J Virol*. Feb de 2006; 80 (4): 1874-85, cuyo contenido se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

La producción de partículas de AAV con baculovirus en un sistema de células de insecto puede abordar la inestabilidad genética y física conocida de los baculovirus. Las células productoras de virus infectadas con baculovirus se cosechan en alícuotas que se pueden crioconservar en nitrógeno líquido; las alícuotas conservan la viabilidad y la infectividad para la infección de cultivos de células productoras de virus a gran escala (Wasilko DJ *et al*., Protein Expr Purif. Jun de 2009; 65(2): 122-32).

En algunos aspectos, las células de replicación viral

estables permisivas para la infección por baculovirus se modifican genéticamente con al menos una copia integrada estable de cualquiera de los elementos necesarios para la replicación de AAV y la producción de partículas virales que incluyen, pero no se limitan a, todo el genoma de AAV, genes Rep y Cap, genes Rep, genes Cap, cada proteína Rep como un casete de transcripción separado, cada proteína VP como un casete de transcripción separado, la AAP (proteína de activación de ensamblaje) o al menos uno de los genes auxiliares de baculovirus con promotores nativos o no nativos.

En algunos aspectos, la producción de partículas de AAV se puede modificar para aumentar la escala de producción. La transfección de células de replicación en formatos de cultivo a gran escala se puede llevar a cabo de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica.

En algunos aspectos, los biorreactores de cultivo celular se pueden usar para la producción viral a gran escala. En algunos casos, los biorreactores comprenden reactores de tanque agitado.

VI.A.9. Lisis Celular

Las células de la descripción, que incluyen, pero no se limitan a, células de producción viral, se pueden someter a lisis celular de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica. La lisis celular se puede llevar a cabo para

obtener uno o más agentes (por ejemplo, partículas virales) presentes dentro de cualquier célula de la descripción.

Los métodos de lisis celular pueden ser químicos o mecánicos. La lisis celular química habitualmente comprende poner en contacto una o más células con uno o más agentes de lisis. La lisis mecánica comprende habitualmente someter una o más células a una o más condiciones de lisis y/o una o más fuerzas de lisis. En algunos aspectos, la lisis química se puede usar para lisar las células. Como se usa en la presente, el término "agente de lisis" se refiere a cualquier agente que pueda ayudar en la alteración de una célula. En algunos casos, los agentes de lisis se introducen en soluciones, denominadas soluciones de lisis o amortiguadores de lisis. Como se usa en la presente, el término "solución de lisis" se refiere a una solución (habitualmente acuosa) que comprende uno o más agentes de lisis. Además de los agentes de lisis, las soluciones de lisis pueden incluir uno o más agentes amortiguadores, agentes solubilizantes, agentes tensioactivos, conservadores, crioprotectores, enzimas, inhibidores enzimáticos y/o quelantes.

Las concentraciones de sales se pueden aumentar o disminuir para obtener una concentración efectiva para la ruptura de las membranas celulares. Los agentes de lisis que comprenden detergentes pueden incluir detergentes iónicos o detergentes no iónicos. Los detergentes pueden funcionar para

romper o disolver las estructuras celulares que incluyen, pero no se limitan a, membranas celulares, paredes celulares, lípidos, carbohidratos, lipoproteínas y glicoproteínas.

En algunos aspectos, se lleva a cabo la lisis celular mecánica. Los métodos de lisis celular mecánica pueden incluir el uso de una o más condiciones de lisis y/o una o más fuerzas de lisis. Como se usa en la presente, el término "condición de lisis" se refiere a un estado o circunstancia que promueve la interrupción celular. Las condiciones de lisis pueden comprender determinadas temperaturas, presiones, pureza osmótica, salinidad y similares. En algunos aspectos, las condiciones de lisis comprenden temperaturas aumentadas o disminuidas. En algunos aspectos, las condiciones de lisis comprenden cambios en la temperatura para promover la alteración celular. La lisis celular llevada a cabo de acuerdo con estos aspectos puede incluir lisis de congelación-descongelación.

Como se usa en la presente, el término "fuerza de lisis" se refiere a una actividad física usada para alterar una célula. Las fuerzas de lisis pueden incluir, pero no limitarse a, fuerzas mecánicas, fuerzas sónicas, fuerzas gravitacionales, fuerzas ópticas, fuerzas eléctricas y similares. La lisis celular llevada a cabo por fuerza mecánica se denomina en la presente "lisis mecánica". Las fuerzas mecánicas que se pueden usar de acuerdo con la lisis

mecánica pueden incluir fuerzas de fluido de alto cizallamiento.

En algunos aspectos, se puede usar un método para recolectar partículas de AAV sin lisis para la producción de partículas de AAV eficiente y escalable. En un ejemplo no limitante, las partículas de AAV se pueden producir cultivando una partícula de AAV que carece de un sitio de unión a heparina, permitiendo de esta manera que la partícula de AAV pase al sobrenadante, en un cultivo celular, recolectando el sobrenadante del cultivo; y aislando la partícula de AAV del sobrenadante, como se describe en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos 20090275107.

VI.A.10. Purificación de AAV

Los lisados celulares que comprenden partículas virales se pueden someter a clarificación. La aclaración se refiere a los pasos iniciales tomados en la purificación de partículas virales de lisados celulares. La clarificación sirve para preparar lisados para una purificación adicional mediante la remoción de residuos insolubles más grandes. Los pasos de clarificación pueden incluir, pero no limitarse a, centrifugación y filtración.

En algunos aspectos, las partículas de AAV se pueden purificar a partir de lisados celulares clarificados mediante uno o más métodos de cromatografía. La cromatografía se refiere a cualquier cantidad de métodos conocidos en la

técnica para separar uno o más elementos de una mezcla. Estos métodos pueden incluir, pero no limitarse a, cromatografía de intercambio iónico (por ejemplo, cromatografía de intercambio catiónico y cromatografía de intercambio aniónico), cromatografía de inmunoafinidad y cromatografía de exclusión por tamaño.

VII. Composiciones Farmacéuticas

En algunos aspectos, una composición farmacéutica descrita en la presente comprende un vector de administración de la presente descripción (por ejemplo, un vector viral, un vector no viral, un plásmido, un lípido o un lisosoma) que comprende un promotor unido operativamente a una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) o un fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente y un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable, que es adecuado para la administración por inyección periocular. Los excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables se determinan en parte por la composición particular que se administra, así como por el método particular usado para administrar la composición.

Por consiguiente, existe una amplia variedad de formulaciones adecuadas de composiciones farmacéuticas que comprenden un vector de administración de la presente descripción (por ejemplo, un vector de AAV) o una pluralidad

de los mismos (ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18ava ed. (1990)). Las composiciones farmacéuticas generalmente se formulan estériles y en pleno cumplimiento de todas las regulaciones de Good Manufacturing Practice (GMP) de la U.S. Food and Drug Administration. En algunos aspectos, la composición farmacéutica comprende más de un vector de AAV de la presente descripción, en donde cada vector comprende al menos un polinucleótido que codifica al menos una molécula terapéutica.

En algunos aspectos, una composición farmacéutica comprende (i) uno o más vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, vectores de AAV o cápsides de AAV), y (ii) uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de un trastorno. En algunos aspectos, el uno o más vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, vectores de AAV o cápsides de AAV) y el uno o más agentes terapéuticos para una enfermedad o trastorno (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) se coadministran en una composición farmacéutica individual.

En algunos aspectos, el uno o más vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) y el uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de una patología (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) se coadministran

como composiciones farmacéuticas separadas.

En algunos aspectos, una composición farmacéutica que comprende uno o más vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) se administra antes, después o simultáneamente con la administración de una composición farmacéutica que comprende uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de una patología (por ejemplo, Enfermedad Ocular Tiroidea).

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración a la región oftálmica (es decir, región ocular o periocular que está en o cerca de un ojo (por ejemplo, uno o ambos ojos)). En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para inyección periocular. Por ejemplo, la composición farmacéutica es adecuada para la administración al tejido o los trejidos intraoculares, retro o periorbital, retrobulbar, intramuscular cerca del ojo, al tejido conectivo cerca del ojo o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración mediante inyección periocular como una dosis individual. En algunos aspectos, la administración de dosis individual comprende múltiples inyecciones perioculares. En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su

administración mediante inyección periocular como dosis múltiples. En algunos aspectos, cada una de las múltiples dosis de administración comprende múltiples inyecciones perioculares.

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un tejido epitelial, un tejido neuroepitelial, un tejido conectivo, un tejido muscular y/o tejido adiposo.

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a uno o más tejidos orbitales o a uno o más compartimentos extraoculares. En algunos aspectos, el tejido o tejidos orbitales o un compartimento o compartimentos extraoculares se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal o película lagrimal.

En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es), se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos

laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el tejido periocular es un tejido periocular.

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un músculo extraocular. En algunos aspectos, el músculo extraocular es un músculo elevador, un músculo recto (por ejemplo, un músculo recto lateral, medial, superior o inferior), un músculo oblicuo (por ejemplo, un músculo oblicuo inferior o superior).

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración mediante inyección periocular a un tejido conectivo.

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración mediante inyección periocular a un tejido adiposo.

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración mediante inyección periocular a una célula ocular o periocular. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito,

una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de las mismas. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un tejido periorbital y/o retroorbital. En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un músculo periorbital y/o retroorbital. En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un músculo elevador. En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un músculo recto (por ejemplo, un músculo recto lateral, medial, superior o inferior). En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un músculo oblicuo (por ejemplo, un músculo oblicuo inferior o superior).

En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un fibroblasto en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos

aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un miofibroblasto en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un adipocito en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la composición farmacéutica de la descripción se formula para su administración periocular a un miocito en el tejido conectivo periorbital o retroorbital.

En la presente también se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) que tienen el grado deseado de pureza, y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable, en una forma adecuada para la administración periocular a un sujeto. Los excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables pueden determinarse en parte por la composición particular que se administra, así como por el método particular usado para administrar la composición. Por consiguiente, existe una amplia variedad de formulaciones adecuadas de composiciones farmacéuticas que comprenden una pluralidad de vectores, por ejemplo, vectores de AAV descritos en la presente. (Ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 21ava ed. (2005)). Las composiciones farmacéuticas

generalmente se formulan estériles y en pleno cumplimiento de todas las regulaciones de Good Manufacturing Practice (GMP) de la U.S. Food and Drug Administration.

Los portadores, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores (por ejemplo, animales o humanos) en las dosis y concentraciones empleadas.

Los ejemplos de portadores o diluyentes incluyen, pero no se limitan a, agua, solución salina, soluciones de Ringer, solución de dextrosa y 5% de albúmina de suero humano. Excepto en la medida en que cualquier medio o compuesto convencional sea incompatible con los vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV), se contempla su uso en las composiciones. En algunos aspectos, una composición farmacéutica se formula para ser compatible con su vía de administración prevista. Los vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) se pueden administrar a la región oftálmica (es decir, región ocular o periocular, a un ojo o cerca de un ojo (por ejemplo, uno o ambos ojos)), por ejemplo, el vector de administración, o la composición, es adecuada para, intraocular, retro- o peri-orbital, retrobulbar, intramuscular cerca del ojo, al tejido conectivo cerca de la administración o administración ocular, o cualquier combinación de los mismos.

Los vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) se pueden formular usando uno o más excipientes para (1) aumentar la estabilidad; (2) aumentar la transfección o transducción celular; (3) permitir la liberación sostenida o retardada; o (4) alterar la biodistribución (por ejemplo, dirigir el vector de AAV a tejidos o tipos celulares específicos).

En algunos aspectos, los métodos de la descripción proporcionan una eficiencia de transducción de vectores de AAV de al menos 5% (por ejemplo, 5% a 95%, 10% a 95%, 15% a 95%, 20% a 95%, 25% a 95%, 30% a 95%, 40% a 95% o 50% a 95%) de las células oculares o perioculares diana. En algunos aspectos, la eficiencia de transducción del vector de AAV es de al menos 5%, al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% de las células oculares o perioculares diana. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular diana es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de las mismas. En algunos aspectos, la célula diana es una célula retrobulbar. En algunos aspectos, el vector de AAV transduce células seleccionadas de: adipocitos, fibroblastos orbitales

y músculos extraoculares.

VIII. Métodos de Tratamiento y Uso

En algunos aspectos, los métodos descritos en la presente se usan para tratar la enfermedad ocular tiroidea (TED). TED, también conocida como orbitopatía asociada a la tiroides (TAO) o orbitopatía de Graves, es una rara condición autoinmunitaria que provoca inflamación orbital que puede resultar en desfiguración facial, dolor, visión comprometida y/o problemas en la calidad de vida. Si bien la fisiopatología de TED es compleja, investigaciones recientes han confirmado que la activación de la enfermedad ocurre en los fibroblastos orbitales (Tepezza Prescribing Information, Mohyi, J., *et al*., Mol Endocrinol 61(1): T29-T43 (2018), Men, C.J., *et al*., Ther Adv Ophthalmol 13: 25158414211027760 (2021)). En comparación con la enfermedad de Graves (GD), donde la patogénesis se correlaciona directamente con la activación sistémica de los receptores de la hormona estimulante de la tiroides (TSHR), se cree que la patogénesis de TED se atribuye principalmente a la activación del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF1R) dentro de la órbita y cierta interacción con el TSHR, aunque el papel exacto del TSHR en TED aún no está definido en gran medida (McIver, B., *et al*., Endocrinol Metab Clin North Am 27(1): 73-89 (1998), Smith, T.J., *et al*., Endocr Rev 40(1): 236-267 (2019), Men 2021). La estimulación de IGF1R

dentro de los fibroblastos orbitales desencadena la producción de citocinas y el aumento de la síntesis de glucosaminoglucano y hialuronano, lo que provoca la proliferación celular y la remodelación del tejido orbital (Men 2021). La diferenciación de fibroblastos orbitales activados en adipocitos y miofibroblastos contribuye aún más a la expansión de los tejidos en el espacio orbital, lo que finalmente resulta en proptosis, retracción del párpado y disfunción muscular extraocular que conduce a diplopía (Men 2021, Szelog, J., *et al*., Mo Med 119(4): 343-350 (2022)).

TED se manifiesta de manera bifásica, presentando inicialmente una fase activa de inflamación aguda del tejido orbital y periorbital que dura de 6 meses a 2 años, seguida de una fase crónica en la que la inflamación es moderada, pero todos los demás síntomas permanecen (Szelog 2022). En algunos aspectos, los métodos descritos en la presente son para el tratamiento de TED de fase activa (por ejemplo, TED aguda y activa). En algunos aspectos, los métodos descritos en la presente son para el tratamiento de TED de fase crónica.

La presentación de la enfermedad de TED es en gran medida heterogénea y puede ser asimétrica dentro de los individuos; los síntomas van desde leves (por ejemplo, ojo seco e irritación) hasta amenazantes para la vista (por ejemplo, compresión del nervio óptico y ulceración corneal)

(Weiler, D.L., Clin Exp Optom 100(1):20-25 (2017), Panagiotou, G., *et al*., Endocrinol frontal (Lausana) 11: 611845 (2020)). Las manifestaciones oftálmicas adicionales incluyen edema periorbital, estrabismo, quemosis y aumento de la presión intraocular (Douglas, R.S., *et al*., N Engl J Med 382(4): 341-352 (2011)). Los síntomas de la enfermedad que la acompaña, que pueden incluir desfiguración facial, alteración de la visión y dolor/irritación ocular, suelen dar lugar a una imagen negativa de sí mismo, pérdida de confianza e incapacidad para completar las actividades diarias. En general, TED disminuye en gran medida la calidad de vida de los pacientes y conlleva una mayor tasa de suicidio Ferlov-Schwensen, C., *et al*., Thyroid 27(12): 1475-1480 (2017), Park, K.S., *et al*., Taiwan J Ophthalmol 12(1): 93-96 (2022)).

Los tratamientos actuales pueden depender tanto de la fase como de la gravedad de la enfermedad, pero buscan reducir la inflamación ocular existente. Para TED de moderado a grave en la fase activa, actualmente se recomiendan glucocorticoides sistémicos tal como la metilprednisolona sola o en combinación con micofenolato como terapia de primera línea. Sin embargo, si bien proporcionan alivio a corto plazo, no alivian por completo los síntomas característicos de TED, que incluyen proptosis, diplopía y sensibilidad a la luz, y las dosis más altas se asocian con eventos adversos significativos tal como aumento de la

presión arterial, aumento de peso, hiperglucemia, hepatotoxicidad, características cushingoides y efectos gastrointestinales (Douglas 2011, Bartalena, L., *et al*., J Clin Endocrinol Metab 97(12): 4454-4463 (2012), Bartalena, L., *et al*., Eur J Endocrinol 185(4): G43-G67 (2021), Men 2021, Burch, H.B., *et al*., Eur Thyroid J 11(6) (2022)). Además, solo la mitad de la población de Ted responde a los glucocorticoides, y muchos pacientes requieren una segunda ronda de tratamiento con glucocorticoides en dosis altas con un monitoreo cuidadoso de los síntomas oftálmicos y la función hepática, seguido de una cirugía de descompresión orbital si aún no responden (Mohyi 2018, Bartalena 2021). Para aquellos que responden a los glucocorticoides, la respuesta es temporal sin impacto a largo plazo en la proptosis (Fallahi, P., *et al*., Expert Opin Biol Ther 23(2): 123-131, (2023)). Tras la progresión a la fase quiescente posinflamatoria donde la enfermedad se manifiesta principalmente como desfiguración facial, los fármacos terapéuticos son menos efectivos (Dosiou, C., *et al*., J Endocr Soc 5(5): bvab034 (2021)). Como tal, la intervención estándar consiste en cirugías de rehabilitación tal como la descompresión orbital y las cirugías plásticas u otras cirugías oculares correctivas (Bartalena 2021).

Actualmente en Europa, no existen medicamentos aprobados para el tratamiento de TED. En los Estados

Unidos, el anticuerpo monoclonal humano teprotumumab (Tepezza) se aprobó en 2020 como el primer tratamiento indicado para el TED agudo y activo y se amplió al TED crónico en 2023. Teprotumumab inhibe la activación de IGF1R, limitando la señalización inflamatoria en los fibroblastos orbitales y la producción de moléculas que provocan hinchazón tisular. A pesar de su eficacia probada en TED moderado a severo hasta 24 semanas, el régimen de tratamiento de Tepezza de 8 infusiones intravenosas cada 3 semanas supone una carga significativa para los pacientes. Los eventos adversos otológicos, incluidos el tinnitus y la discapacidad auditiva grave (una adición reciente a la sección Advertencias y precauciones de la Información de prescripción de Tepezza) ocurren en el 65% de los pacientes que reciben Tepezza, y los síntomas generalmente se resuelven después de la interrupción del tratamiento (Douglas, R.S., *et al*., N Engl J Med 382(4): 341-352 (2020), Men 2021). La exacerbación de la enfermedad inflamatoria intestinal preexistente y la hiperglucemia son advertencias adicionales observadas en la etiqueta de Tepezza (Teo, H., *et al*., Ther Clin Risk Manag 17: 1219-1230 (2021)). También se ha observado reactivación de la enfermedad que requiere cursos adicionales de Tepezza, lo que significa una necesidad insatisfecha de un tratamiento duradero y específico para TED (Smith, T.J., Poster

presented at Annual Conference of American Thyroid Association, Montreal, Quebec, Canada (2022)).

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a métodos para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea (TED)) y el uso de composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas), polinucleótidos (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos), vectores y rAAV para tratar un sujeto en necesidad del mismo.

Algunos aspectos de la presente descripción se refieren a métodos para administrar un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) mediante inyección periocular (por ejemplo, peribulbar) a un sujeto en necesidad del mismo.

En algunos aspectos, los métodos comprenden administrar mediante inyección periocular (por ejemplo, inyección peribulbar) al sujeto un vector de administración (por ejemplo, un vector viral, un vector no viral, un plásmido, un lípido, una partícula de proteína, un vector bacteriano o un lisosoma), o una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende una carga útil terapéutica.

En algunos aspectos, el sujeto padece una patología oftálmica (es decir, ocular o periocular) (es decir,

enfermedad, trastorno, condición, síndrome o cualquier combinación de los mismos). En algunos aspectos, la patología oftálmica se selecciona del grupo que consiste en Degeneración Macular Relacionada con la Edad, Enfermedad de Behçet, Distrofia Cristalina de Bietti, Blefaritis, Blefaroespasmo, Coloboma, Condiciones Corneales, Retinopatía Diabética, Ojo Seco, Glaucoma, Hipertensión Intracraneal Idiopática, Edema Macular, Síndrome de Histoplasmosis Ocular, Ojo Rosa o Rosado, Retinitis Pigmentosa, Retinobastoma, Retinopatía del Prematuro, Enfermedad de Stargardt, Enfermedad Ocular Tiroidea (TED), Síndrome de Usher, Uveítis o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, la patología oftálmica es la Enfermedad Ocular Tiroidea (TED).

La enfermedad ocular tiroidea (también denominada enfermedad ocular de Grave) es un ejemplo de patología oftálmica. En algunos aspectos, los métodos descritos en la presente se usan para administrar (por ejemplo, mediante inyección periocular) una terapia basada en vectores a un sujeto que padece la enfermedad de Grave.

En algunos aspectos, los métodos comprenden la administración o administración de un polinucleótido (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos), vector, rAAV o composición descrita en la presente a la región oftálmica (es decir, región ocular o periocular, a un ojo o cerca de un ojo

(por ejemplo, uno o ambos ojos)), por ejemplo, el vector de administración, o la composición, es adecuado para, intraocular, retro- o peri-orbital, retrobulbar, intramuscular cerca del ojo, al tejido conectivo cerca de la administración o administración ocular, o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, la administración o administración mediante inyección periocular es a uno o más tejidos orbitales o a uno o más compartimentos extraoculares. En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimentos extraoculares se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal o película lagrimal.

En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es), se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos

inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el tejido periocular es un tejido retrobulbar.

En algunos aspectos, la administración o suministro mediante inyección periocular es a un músculo extraocular. En algunos aspectos, el músculo extraocular es un músculo elevador, un músculo recto (por ejemplo, un músculo recto lateral, medial, superior o inferior), un músculo oblicuo (por ejemplo, un músculo oblicuo inferior o superior). En algunos aspectos, la administración o administración mediante inyección periocular es a un tejido conectivo. En algunos aspectos, la administración o administración mediante inyección periocular es a un tejido adiposo.

En algunos aspectos, la administración o administración mediante inyección periocular es a una célula ocular o periocular. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de las mismas. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, el agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o

fragmento de unión a antígeno del mismo) comprendido en un vector de administración (por ejemplo, un vector viral, un vector no viral, un plásmido, un lípido, una partícula de proteína, un vector bacteriano o un lisosoma) o composición se produce en una célula. En algunos aspectos, la célula es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, la administración es por inyección (por ejemplo, por inyección periocular). En algunos aspectos, la administración es por inyección periocular como una dosis individual. En algunos aspectos, la administración periocular de dosis individual comprende múltiples inyecciones. En algunos aspectos, la administración periocular es por inyección como dosis múltiples. En algunos aspectos, cada una de las múltiples dosis de administración comprende múltiples inyecciones perioculares.

En algunos aspectos, el tratamiento del sujeto de acuerdo con los métodos de la descripción trata o mejora una patología oftálmica en un sujeto que padece una patología oftálmica. En algunos aspectos, el tratamiento del sujeto de acuerdo con los métodos de la descripción trata o reduce los síntomas de una patología oftálmica en un sujeto que padece

una patología oftálmica. En algunos aspectos, la patología oftálmica se selecciona del grupo que consiste en Degeneración Macular Relacionada con la Edad, Enfermedad de Behçet, Distrofia Cristalina de Bietti, Blefaritis, Blefaroespasmo, Coloboma, Condiciones Corneales, Retinopatía Diabética, Ojo Seco, Glaucoma, Hipertensión Intracraneal Idiopática, Edema Macular, Síndrome de Histoplasmosis Ocular, Ojo Rosa o Rosado, Retinitis Pigmentosa, Retinobastoma, Retinopatía del Prematuro, Enfermedad de Stargardt, Enfermedad Ocular Tiroidea (TED), Síndrome de Usher, Uveítis o cualquier combinación de los mismos. En algunos aspectos, la patología oftálmica es la enfermedad ocular tiroidea.

En algunos aspectos, la construcción de AAV descrita en la presente (por ejemplo, AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab) puede abordar los efectos locales de TED (por ejemplo, a través de una inyección peribulbar única) para lograr la expresión del producto transgénico e inhibir la activación de IGF1R directamente en el espacio orbital, el sitio de patogénesis de la enfermedad y la acumulación de grasa en pacientes con TED. Como se analiza en la presente, la administración peribulbar para la administración directamente al espacio periocular, que puede permitir la difusión local del fármaco para el tratamiento del ojo y/o los tejidos circundantes. En algunos aspectos, esta vía de administración localizada limita la exposición a teprotumumab

principalmente a la órbita y minimiza los niveles sistémicos de teprotumumab, mitigando de esta manera las toxicidades fuera de diana observadas con la administración intravenosa de Tepezza. En algunos aspectos, la construcción de AAV descrita en la presente (por ejemplo, AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab) reduce la carga del paciente a través de una inyección única y proporciona un tratamiento prolongado y efectivo para los pacientes con TED sin los efectos adversos asociados con el teprotumumab sistémico.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una patología oftálmica (por ejemplo, enfermedad ocular tiroidea) en un sujeto en necesidad del mismo que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, teprotumumab), en donde la administración es una inyección peribulbar.

En algunos aspectos, la enfermedad ocular tiroidea se selecciona de la Orbitopatía de Graves activa y la Orbitopatía de Graves crónica.

En algunos aspectos, después de la administración del vector de AAV al sujeto, la expresión del agente terapéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo) en el músculo ocular del sujeto es de al

menos aproximadamente 18 µg/ml y/o la concentración sérica del agente terapéutico es inferior a aproximadamente 6 µg/mL.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a métodos para expresar teprotumumab en un sujeto y al uso de composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas), polinucleótidos (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos), vectores o rAAV para expresar teprotumumab en un sujeto, en donde el método o uso comprende administrar las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas), polinucleótidos (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos), vectores o rAAV al sujeto.

En algunos aspectos, la concentración de teprotumumab es de al menos 18 µg/mL en el tejido ocular. En algunos aspectos, la concentración de teprotumumab es de aproximadamente 18 µg/mL en el tejido ocular.

En algunos aspectos, la concentración de teprotumumab es de aproximadamente 4.5 µg/mL a aproximadamente 18 µg/mL, de aproximadamente 5 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 6 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 7 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 8 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 9 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 10 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 11 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 12 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 13 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de

aproximadamente 14 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 15 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 16 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, de aproximadamente 17 µg/mL a aproximadamente 20 µg/mL, en tejido ocular.

En algunos aspectos, la concentración de teprotumumab en el tejido ocular es de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 180 µg/mL, de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 100 µg/mL, de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 60 µg/mL, o de aproximadamente 18 µg/mL a aproximadamente 30 µg/mL.

En algunos aspectos, la concentración de teprotumumab en el tejido ocular está entre 18 µg/mL y 180 µg/mL, entre 18 µg/mL y 100 µg/mL, entre 18 µg/mL y 60 µg/mL, o entre 18 µg/mL y 30 µg/mL.

En algunos aspectos, el tejido ocular es músculo ocular.

En algunos aspectos, la expresión de teprotumumab es menor que aproximadamente 6 µg/mL (por ejemplo, aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5.9 µg/mL) en suero después de la administración del vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el anticuerpo de teprotumumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, la administración es una dosis individual.

En algunos aspectos, la dosis individual se

administra en un sitio de inyección individual.

En algunos aspectos, la dosis individual se administra en múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es de dosis múltiples.

En algunos aspectos, la dosis de las múltiples dosis se administra en un sitio de inyección individual.

En algunos aspectos, cada dosis de las múltiples dosis se administra en diferentes sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración (por ejemplo, una inyección peribulbar) es una dosis individual para el ojo (por ejemplo, una administración unilateral). En algunos aspectos, la dosis individual se administra en un sitio de inyección individual. En algunos aspectos, la dosis individual se administra en múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración (por ejemplo, una inyección peribulbar) es múltiples dosis en el ojo (por ejemplo, una administración unilateral). En algunos aspectos, la dosis de las múltiples dosis se administra en un sitio de inyección individual. En algunos aspectos, cada dosis de las múltiples dosis se administra en diferentes sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es bilateral, es decir, se administra a ambos ojos (por ejemplo, una inyección peribulbar a cada ojo).

En algunos aspectos, el sujeto es un ser humano.

En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 6E11 a aproximadamente 2E13 genomas de vector (vg) por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 1E12 a aproximadamente 2E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 3E12 a aproximadamente 1.8E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 5E12 a aproximadamente 1E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 6E12 a aproximadamente 9E12 vg por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 1E11, aproximadamente 2E11, aproximadamente 3E11, aproximadamente 4E11, aproximadamente 5E11, aproximadamente 6E11, aproximadamente 7E11, aproximadamente 8E11, aproximadamente 9E11, aproximadamente 1E12, aproximadamente 2E12, aproximadamente 3E12, aproximadamente 4E12, aproximadamente 5E12, aproximadamente 6E12, aproximadamente 7E12, aproximadamente 8E12, aproximadamente 9E12, aproximadamente 1E13, aproximadamente 1.1E13, aproximadamente 1.2E13, aproximadamente 1.3E13, aproximadamente 1.4E13 o aproximadamente 1.5E13 de cualquiera del genoma del vector descrito en la presente por ojo (es decir, vg/ojo).

En algunos aspectos, al sujeto humano se le

administra entre aproximadamente 6E12 y aproximadamente 9E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos en la presente por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 6E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos en la presente por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 9E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos en la presente por ojo.

En algunos aspectos, la administración es bilateral, es decir, se administra a ambos ojos (por ejemplo, una inyección peribulbar a cada ojo). En algunos aspectos, la administración es unilateral (por ejemplo, una inyección peribulbar en un ojo).

En algunos aspectos, los métodos descritos en la presente comprenden además administrar un agente inmunosupresor (por ejemplo, un esteroide) al sujeto antes, durante o después de la administración de un vector de AAV descrito en la presente.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un régimen de dosificación que comprende:

(a) un agente inmunosupresor; y

(b) una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de

unión a antígeno del mismo (por ejemplo, teprotumumab).

En algunos aspectos, el agente inmunosupresor se administra antes de (pre-AAV), al mismo tiempo que, y/o después de (post-AAV) administrar la composición farmacéutica que comprende un vector de AAV.

En algunos aspectos, el agente inmunosupresor se administra antes de (pre-AAV) administrar la composición farmacéutica que comprende un vector de AAV.

En algunos aspectos, el agente inmunosupresor se administra al mismo tiempo que la administración de la composición farmacéutica que comprende un vector de AAV.

En algunos aspectos, el agente inmunosupresor se administra después (después de AAV) de administrar la composición farmacéutica que comprende un vector de AAV.

En algunos aspectos, el agente inmunosupresor es un esteroide.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo es teprotumumab.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6 o fragmento de unión a antígeno del mismo es Tocilizumab, Siltuximab, Olokizumab, Clazakizumab, Sirukumab, Legitimab, TOUR006, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-6R o fragmento de unión a antígeno del mismo es Sarilumab, Satralizumab, o fragmentos, variantes o derivados de los mismos.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11 o fragmento de unión a antígeno del mismo es 9MW3811 o fragmentos, variantes o derivados del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IL-11R o fragmento de unión a antígeno del mismo es BI 765423, LASN01, o fragmentos, variantes o derivados del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a antígeno del mismo es Batoclimab, Efgartigimod, Rozanolixizumab, Nipocalimab, Orilanolimab, IMVT-1402, o fragmentos, variantes o derivados del mismo.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-TSHR o fragmento de unión a antígeno del mismo es K1-70.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL).

En algunos aspectos, la VH comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1 de VH, una CDR2 de VH y una CDR3 de VH. En algunos aspectos, la CDR1 de VH se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 9 o 12. En algunos aspectos, la CDR2 de VH se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%

de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 10, 13 o 15. En algunos aspectos, la CDR3 de VH se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 11, 14 o 16.

En algunos aspectos, la VL comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1 de VL, una CDR2 de VL y una CDR3 de VL. En algunos aspectos, la CDR1 de VL se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 17. En algunos aspectos, la CDR2 de VL se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 18, 20 o 22. En algunos aspectos, la CDR3 de VL se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 19, 21 o 23.

En algunos aspectos, la región variable de cadena pesada se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 24-26.

En algunos aspectos, la región variable de cadena

ligera se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 29-31.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R comprende una cadena pesada y una cadena ligera.

En algunos aspectos, la cadena pesada se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 40-42.

En algunos aspectos, la cadena ligera se codifica por una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 46-48.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IGF-1R, un anticuerpo anti-IL-6, un anticuerpo anti-IL-6R, un anticuerpo anti-IL-11, un anticuerpo anti-IL-11R, un anticuerpo anti-FcRn, un anticuerpo anti-TSHR o fragmentos de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un

anticuerpo anti-IGF-1R. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es un anticuerpo teprotumumab.

En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende un marco de lectura abierto que comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, la secuencia de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el casete de expresión de anticuerpo comprende además un promotor de smCBA (por ejemplo, SEQ ID NO: 145).

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende un casete de expresión que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, teprotumumab) unido operativamente a un promotor.

En algunos aspectos, el promotor se selecciona del grupo que consiste en un potenciador temprano de CMV/promotor de β actina de pollo (CAG), CAG, CBA, smCBA, CMV, subunidad la del factor de elongación humano (EF1α), EF1α con un potenciador de CMV, un promotor de CMV con un potenciador de CMV (CMVe/p), un promotor de CMV con un intrón de SV40 o un promotor específico de tejido.

En algunos aspectos, el promotor es un promotor de CAG.

En algunos aspectos, el promotor es un promotor de smCBA.

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende además un intrón.

En algunos aspectos, el intrón se selecciona del grupo que consiste en un intrón de SV40, un intrón de MVM, un intrón de CAG o un intrón de betaglobina humana.

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende además un ácido nucleico que codifica para un péptido señal unido operativamente al ácido nucleico que codifica para el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En algunos aspectos, el péptido señal es un péptido señal de IL-2 o un péptido señal de IL-10.

En algunos aspectos, el casete de expresión comprende además una secuencia poli(A).

En algunos aspectos, el poli(A) es un poli(A) sintético o un poli(A) de hormona de crecimiento bovino (BGH).

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una cápside de un serotipo seleccionado del grupo que consiste en AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVRh8, AAVrh9, AAV9, AAVrh10, AAV10, AAV11, AAV12 y una versión modificada de los mismos.

En algunos aspectos, el serotipo de la cápside es AAV8 o AAV9. En algunos aspectos, el serotipo de la cápside es AAV9.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una cápside, un genoma de vector y un casete de expresión.

En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una repetición terminal invertida (ITR). En algunos aspectos, las ITR 5' y 3' comprenden una ITR 5’ y una ITR 3’ descritas en la Tabla 16. En algunos aspectos, las ITR 5’ y 3’ comprenden SEQ ID NO: 143 y 144, respectivamente.

En algunos aspectos, el vector de AAV es un AAV recombinante (rAAV, por sus siglas en inglés) que comprende una cápside de AAV9 que encapsula un genoma de vector que comprende una secuencia codificante de ácido nucleico para un anticuerpo anti-IGF-1R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, opcionalmente teprotumumab, flanqueado por un par de repeticiones terminales invertidas (ITR).

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende AAV9.smCBA.teprotumumab. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende AAV9.CAG.teprotumumab.

En algunos aspectos, el vector de AAV comprende la secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende una secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el

vector de AAV comprende la secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 142. En algunos aspectos, el vector de AAV comprende la secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 142.

IX. Administración

Las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) y los vectores de administración (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) descritos en la presente se pueden administrar mediante inyección periocular, lo que da lugar a un resultado terapéuticamente efectivo. En algunos aspectos, la inyección periocular comprende una inyección peribulbar.

Ciertos aspectos de la descripción se refieren a un método para administrar una composición farmacéutica que comprende un vector de AAV a un tejid(s) orbital(es) o un compartimento(s) extraocular(es), que comprende inyectar el vector de AAV periocularmente (por ejemplo, peribulbarmente), en donde el tejido(s) orbital(es) o compartimento(s) extraocular (es) se selecciona del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculo elevador extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos

superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lacrimal, saco lacrimal, película lagrimal o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es), se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, la administración comprende un volumen de 0.1 mL a 5 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende un volumen de 0.1 mL a 1 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende un volumen de 0.1 mL a 0.5 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende un volumen de 0.3 mL a 0.5 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende un

volumen de aproximadamente 0.4 mL de la composición farmacéutica por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración comprende inyectar un volumen de aproximadamente 0.1 mL, aproximadamente 0.2 mL, aproximadamente 0.3 mL, aproximadamente 0.4 mL, aproximadamente 0.6 mL, aproximadamente 0.7 mL, aproximadamente 0.8 mL o 0.9 mL, o aproximadamente 1.0 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular. En algunos aspectos, la administración comprende inyectar un volumen de aproximadamente 0.1 mL a 0.25 mL de una composición (por ejemplo, composición farmacéutica) por inyección periocular.

En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular puede ser para la administración del vector de AAV a la región oftálmica (es decir, región ocular o periocular, a un ojo o cerca de un ojo (por ejemplo, uno o ambos ojos)). Por ejemplo, la administración mediante inyección periocular puede ser para la administración de un vector de AAV a cualquier tejido intraocular, retro o periorbital, retrobulbar o intramuscular cerca del ojo, al tejido conectivo cerca del ojo o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, la administración es por inyección periocular como una dosis individual. En algunos

aspectos, la administración de dosis individual comprende múltiples inyecciones. En algunos aspectos, la administración es por inyección periocular como dosis múltiples. En algunos aspectos, cada una de las múltiples dosis de administración comprende múltiples inyecciones perioculares.

En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular es a un tejido epitelial, un tejido neuroepitelial, un tejido conectivo, un tejido muscular y/o tejido adiposo.

En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular es a uno o más tejidos orbitales o a uno o más compartimentos extraoculares. En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimentos extraoculares se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal o película lagrimal.

En algunos aspectos, el o los tejidos orbitales o compartimento(s) extraocular(es), se seleccionan del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculos rectos

laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, el tejido periocular es un tejido retrobulbar.

En algunos aspectos, la administración por inyección periocular es a un músculo extraocular. En algunos aspectos, el músculo extraocular es un músculo elevador, un músculo recto (por ejemplo, un músculo recto lateral, medial, superior o inferior), un músculo oblicuo (por ejemplo, un músculo oblicuo inferior o superior). En algunos aspectos, la administración es a un tejido conectivo. En algunos aspectos, la administración o administración mediante inyección periocular es a un tejido adiposo.

En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular es a una célula ocular o periocular. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de las mismas. En algunos aspectos, la célula periocular es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, la administración mediante

inyección periocular es a un tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular es a un fibroblasto en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular es a un miofibroblasto en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular es a un adipocito en el tejido conectivo periorbital o retroorbital. En algunos aspectos, la administración mediante inyección periocular es a un miocito en el tejido conectivo periorbital o retroorbital.

En algunos aspectos, las composiciones de vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, casetes de expresión) o cápsides de AAV se pueden administrar de forma periocular de una manera que facilite que los vectores ingresen a un tejido periorbital o retrobulbar del sujeto.

En algunos aspectos, el tejido periorbital o retrobulbar es tejido muscular y/o adiposo seleccionado.

En algunos aspectos, los vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, vectores virales o los vectores no virales (incluido el ADN desnudo)) que comprenden un ácido nucleico se introducen en el tejido periorbital o retrobulbar *in vivo*, por ejemplo, mediante administración periocular, que puede lograrse mediante perfusión (por ejemplo, inyección continua), o mediante una inyección

discontinua individual. La administración periocular también se puede lograr mediante canulación, por ejemplo, mediante la inserción de una cánula junto al ojo. En algunos aspectos, la administración periocular se puede lograr mediante la inserción de una aguja, por ejemplo, una aguja de calibre 22-27, en el borde inferolateral de la órbita ósea, avanzó hacia atrás hasta que la punta pasa el ecuador del ojo y luego se dirigió medialmente hacia el vértice de la órbita. En algunos aspectos, la administración periocular también se puede lograr insertando una aguja a través del párpado y la fascia orbital para depositar la composición descrita en la presente detrás del globo.

En algunos aspectos, la administración periocular proporciona ventajas, por ejemplo, debido a que el vector se presenta a las células en un microentorno generalmente inmunitario privilegiado, se pueden evitar las reacciones inmunológicas e inflamatorias que se observan comúnmente como resultado de la administración de formulaciones transformantes y sus adyuvantes en la sangre y el líquido intersticial.

En algunos aspectos, la administración periocular comprende un volumen de una cantidad efectiva de las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) y vectores de administración (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) descritos en la presente

que se reduce en comparación con un volumen de una cantidad efectiva de las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) y vectores de administración (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) descritos en la presente administrados a través de otros métodos tal como inyección intravenosa (IV), intralinfática, subconjuntival o peribulbar.

En algunos aspectos, el volumen de las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) administradas por vía periocular es de aproximadamente 0. 1 mL a aproximadamente 10 mL, aproximadamente 1 mL a aproximadamente 10 mL, aproximadamente 0.5 mL a aproximadamente 10 mL, aproximadamente 5 mL a aproximadamente 10 mL, aproximadamente 0.1 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 1 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 0.5 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 5 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 0.1 mL a aproximadamente 1 mL, aproximadamente 0.25 mL a aproximadamente 1 mL, aproximadamente 2.5 mL a aproximadamente 1 mL o aproximadamente 0.5 mL a aproximadamente 1 mL.

En algunos aspectos, el volumen de la composición (por ejemplo, composición farmacéutica) administrado al sujeto es de aproximadamente 0.25 mL a aproximadamente 1 mL (por ejemplo, de aproximadamente 0.5 mL a aproximadamente 1 mL).

En algunos aspectos, el volumen de la composición (por ejemplo, composición farmacéutica) administrable al sujeto es aproximadamente 0.25 mL, aproximadamente 0.3 mL, aproximadamente 0.4 mL, aproximadamente 0.5 mL, aproximadamente 0.6 mL, aproximadamente 0.7 mL, aproximadamente 0.8 mL, aproximadamente 0.9 mL o aproximadamente 1 mL.

En algunos aspectos, el volumen de la composición (por ejemplo, composición farmacéutica) administrada mediante inyección periocular es al menos %, al menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, reducido en comparación con el volumen de la composición (por ejemplo, composición farmacéutica) mediante inyección intravenosa (IV), intralinfática, subconjuntival o peribulbar.

En algunos aspectos, al menos %, al menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o 100% de la composición (por ejemplo, composición farmacéutica) o vector

de administración (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpos o partícula de rAAV) administrado al sujeto entra en contacto con un tejido ocular o periocular.

En algunos aspectos, al menos %, al menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o 100% de la composición (por ejemplo, composición farmacéutica) o vector de administración (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpos o partícula de rAAV) administrado al sujeto no contacta y/o transduce un tejido que no es un tejido orbital o un compartimento extraocular.

En algunos aspectos, el (los) tejido(s) orbital (es) o compartimento(s) extraocular (es)seleccionado (s) del grupo que consiste en: tejido adiposo extraocular, músculo elevador extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, vasos sanguíneos, esclerótica, vaina dural, lámina cribrosa, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal, película lagrimal o cualquier combinación de los mismos.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis dentro del intervalo de aproximadamente 1 x 10^8 vg a aproximadamente 2 x 10^{13} vg. En algunos aspectos, la administración comprende una dosis dentro del intervalo de aproximadamente 1 x 10^{13} vg, aproximadamente 1 x 10^9 vg a aproximadamente 1 x 10^{13} vg, aproximadamente 1 x 10^{10} vg a aproximadamente 1 x 10^{13} vg, aproximadamente 1 x 10^{11} vg a aproximadamente 1 x 10^{13} vg, aproximadamente 1 x 10^{12} vg a aproximadamente 1 x 10^{13} vg, aproximadamente 1 x 10^8 vg a aproximadamente 1 x 10^{12} vg, aproximadamente 1 x 10^8 vg a aproximadamente 1 x 10^{11} vg, aproximadamente 1 x 10^8 vg a aproximadamente 1 x 10^{10} vg, aproximadamente 1 x 10^8 vg a aproximadamente 1 x 10^9 vg, aproximadamente 1 x 10^{10} vg a aproximadamente 1 x 10^{12} vg, aproximadamente 1 x 10^9 vg a aproximadamente 1 x 10^{12} vg, aproximadamente 1 x 10^{12} vg a aproximadamente 2 x 10^{13} vg, aproximadamente 3 x 10^{12} vg a aproximadamente 1.8 x 10^{13} vg, aproximadamente 5 x 10^{12} vg a aproximadamente 1 x 10^{13} vg, or aproximadamente 1 x 10^{10} vg a aproximadamente 1 x 10^{11} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 6 x 10^{11} vg a aproximadamente 2 x 10^{13} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 6 x 10^{11} vg a aproximadamente 9 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 1 x 10^{12} vg a aproximadamente 2 x 10^{13} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 3 x 10^{12} vg a aproximadamente 1.8 x 10^{13} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 5 x 10^{12} vg a aproximadamente 1 x 10^{13} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 6 x 10^{12} vg a aproximadamente 2 x 10^{13} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 6 x 10^{12} vg a aproximadamente 9 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 6 x 10^{11} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 1 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 3 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 5 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 6 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 7 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 8 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 9 x 10^{12} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 1 x 10^{13} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 1.8 x 10^{13} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis de aproximadamente 2 x 10^{13} vg.

En algunos aspectos, la administración comprende una dosis dentro del intervalo de aproximadamente 1 x 10^{6} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{11} vg/kg. En algunos aspectos, la administración comprende una dosis dentro del intervalo de aproximadamente 1 x 10^{6} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{11} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^{7} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{11} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^{8} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{11} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^{9} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{11} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^{10} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{11} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^{6} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{10} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^{6} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{9} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^{6} vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{8} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^{6}

vg/kg a aproximadamente 1 x 10^7 vg/kg, aproximadamente 1 x 10^8 vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{10} vg/kg, aproximadamente 1 x 10^7 vg/kg a aproximadamente 1 x 10^{10} vg/kg, or aproximadamente 1 x 10^8 vg/kg a aproximadamente 1 x 10^9 vg/kg.

La cantidad de ácido nucleico para transformar una cantidad suficiente de células y proporcionar la expresión de los niveles terapéuticos de la proteína se puede evaluar usando un modelo animal (por ejemplo, un modelo animal de roedor (ratón o rata) u otro mamífero) para evaluar factores tal como la eficiencia de la transformación, los niveles de expresión de proteínas logrados, la susceptibilidad de las células diana a la transformación y las cantidades de vector y/o ácido nucleico requeridas para transformar las células diana.

La cantidad precisa de vector y/o ácido nucleico administrado variará en gran medida de acuerdo con una serie de factores que incluyen la susceptibilidad de las células diana a la transformación, el tamaño y el peso del sujeto, los niveles de expresión de proteínas deseados y la condición a tratar.

Los vectores de administración descritos en la presente (por ejemplo, vectores de AAV o cápsides de AAV) se pueden administrar en cualquier forma adecuada, ya sea como una solución o suspensión líquida, como una forma sólida adecuada para una solución o suspensión líquida en una

solución líquida.

En algunos aspectos, la administración periocular proporciona una eficiencia de transducción de vectores de AAV de al menos 5% (por ejemplo, 5% a 95%, 10% a 95%, 15% a 95%, 20% a 95%, 25% a 95%, 30% a 95%, 40% a 95% o 50% a 95%) de las células oculares o perioculares diana. En algunos aspectos, la eficiencia de transducción del vector de AAV es de al menos 5%, al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95% de las células oculares o perioculares diana. En algunos aspectos, la célula ocular o periocular diana es una célula de fibroblasto, un adipocito, un miofibroblasto, un miocito, una célula muscular, una célula epitelial, una célula neuroepitelial, un gliocito o cualquier combinación de las mismas. En algunos aspectos, la célula diana es una célula retrobulbar.

En algunos aspectos, el vector de AAV transduce células seleccionadas de: adipocitos, fibroblastos orbitales y músculos extraoculares.

En algunos aspectos, la administración es una inyección peribulbar.

En algunos aspectos, la administración es una dosis individual.

En algunos aspectos, la dosis individual se

administra en un sitio de inyección individual.

En algunos aspectos, la dosis individual se administra en múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es de dosis múltiples.

En algunos aspectos, la dosis de las múltiples dosis se administra en un sitio de inyección individual.

En algunos aspectos, cada dosis de las múltiples dosis se administra en diferentes sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración (por ejemplo, una inyección peribulbar) es una dosis individual para el ojo (por ejemplo, una administración unilateral). En algunos aspectos, la dosis individual se administra en un sitio de inyección individual. En algunos aspectos, la dosis individual se administra en múltiples sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración (por ejemplo, una inyección peribulbar) es múltiples dosis en el ojo (por ejemplo, una administración unilateral). En algunos aspectos, la dosis de las múltiples dosis se administra en un sitio de inyección individual. En algunos aspectos, cada dosis de las múltiples dosis se administra en diferentes sitios de inyección.

En algunos aspectos, la administración es bilateral, es decir, se administra a ambos ojos (por ejemplo, una inyección peribulbar a cada ojo).

En algunos aspectos, el sujeto es un ser humano.

En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 6E11 a aproximadamente 2E13 genomas de vector (vg) por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 1E12 a aproximadamente 2E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 3E12 a aproximadamente 1.8E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 5E12 a aproximadamente 1E13 vg por ojo. En algunos aspectos, al sujeto se le administra de aproximadamente 6E12 a aproximadamente 9E12 vg por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 1E11, aproximadamente 2E11, aproximadamente 3E11, aproximadamente 4E11, aproximadamente 5E11, aproximadamente 6E11, aproximadamente 7E11, aproximadamente 8E11, aproximadamente 9E11, aproximadamente 1E12, aproximadamente 2E12, aproximadamente 3E12, aproximadamente 4E12, aproximadamente 5E12, aproximadamente 6E12, aproximadamente 7E12, aproximadamente 8E12, aproximadamente 9E12, aproximadamente 1E13, aproximadamente 1.1E13, aproximadamente 1.2E13, aproximadamente 1.3E13, aproximadamente 1.4E13 o aproximadamente 1.5E13 de cualquiera del genoma del vector descrito en la presente por ojo (es decir, vg/ojo).

En algunos aspectos, al sujeto humano se le

administra entre aproximadamente 6E12 y aproximadamente 9E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 6E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos en la presente por ojo.

En algunos aspectos, al sujeto humano se le administra aproximadamente 9E12 de cualquiera de los genomas de vector descritos en la presente por ojo.

En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-IGF-1R, un anticuerpo anti-IL-6, un anticuerpo anti-IL-6R, un anticuerpo anti-IL-11, un anticuerpo anti-IL-11R, un anticuerpo anti-FcRn, un anticuerpo anti-TSHR o fragmentos de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo anti-IGF-1R. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-IGF-1R es un anticuerpo teprotumumab. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende la secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende una secuencia de

nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende la secuencia de nucleótidos con al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad con SEQ ID NO: 142. En algunos aspectos, el genoma del vector comprende la secuencia de nucleótidos correspondiente a SEQ ID NO: 142.

En algunos aspectos, la administración es unilateral, es decir, se administra a un ojo (por ejemplo, una inyección peribulbar a un ojo).

En algunos aspectos, la administración es bilateral, es decir, se administra a ambos ojos (por ejemplo, una inyección peribulbar a cada ojo).

X. Kits

La presente descripción también proporciona kits, o productos de fabricación, que comprenden (i) el vector de administración de la presente descripción, o una composición farmacéutica de la presente descripción adecuada para administración periocular, y opcionalmente, (ii) instrucciones de uso (por ejemplo, un prospecto con instrucciones para realizar cualquiera de los métodos para administración periocular descritos en la presente).

En algunos aspectos, el kit o producto de fabricación comprende (i) que comprende los vectores de administración de la presente descripción (por ejemplo, un vector de AAV o

construcción de expresión (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpo) que comprende un ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo)), o una composición farmacéutica de la presente descripción adecuada para administración periocular (por ejemplo, en un volumen para inyección retrobulbar), y opcionalmente (ii) un agente terapéutico adicional, y opcionalmente (iii) también se contemplan instrucciones de uso (por ejemplo, un prospecto con instrucciones para administrar periocularmente la composición para realizar cualquiera de los métodos descritos en la presente).

En algunos aspectos, los componentes de un kit o producto de fabricación descrito en la presente se encuentran en uno o más recipientes. En algunos aspectos, el kit o producto de fabricación comprende (i) un vector de AAV o construcción de expresión (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpo que comprende un ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) adecuado para administración periocular (por ejemplo, formulado en un volumen para inyección periocular (por ejemplo, inyección peribulbar)), y

opcionalmente (ii) un folleto con instrucciones para administración periocular del vector de AAV o construcción de expresión (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpo que comprende un ácido nucleico que codifica para un agente terapéutico de interés (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo) a un sujeto.

En algunos aspectos, un kit o producto de fabricación de la presente descripción comprende al menos un vector de administración (por ejemplo, casetes de expresión de anticuerpos o partículas de rAAV) adecuado para la administración retrobulbar. En algunos aspectos, un kit o producto de fabricación de la presente descripción comprende al menos un polinucleótido que codifica al menos un anticuerpo anti-IGF-1R o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente en un volumen para usarse en la administración periocular (por ejemplo, inyección peribulbar).

Un experto en la técnica reconocerá fácilmente que los polinucleótidos (por ejemplo, casete de expresión de anticuerpos), vectores, partículas de rAAV y composiciones farmacéuticas de la presente descripción, o combinaciones de los mismos, pueden incorporarse fácilmente en uno de los formatos de kit establecidos que son bien conocidos en la técnica.

La práctica de la presente descripción empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro de la experiencia de la técnica. Estas técnicas se explican completamente en la literatura.

Todas las referencias citadas anteriormente, así como todas las referencias citadas en la presente, se incorporan a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Inyección retrobulbar (RB) Administración de AAV a Minicerdos Göttingen sin tratamiento previo

Biodistribución Después de la Administración Periocular en Minicerdos de Göttingen.

No se han evaluado previamente vías de administración perioculares para la administración de AAV. Por lo tanto, se evaluó la biodistribución de AAV mediante inyección retrobulbar, un tipo de inyección periocular, en minicerdos de Göttingen para informar tanto la selección de la cápside como la viabilidad de la administración periocular. La inyección retrobulbar tiene similitudes con la vía clínica de administración prevista de la inyección peribulbar, pero la

aguja avanza más en el espacio orbital y dentro del cono muscular, mientras que en las inyecciones peribulbar, la aguja se detiene fuera del cono muscular. Dado que no hay membrana intermuscular para separar los compartimentos peribulbar y retrobulbar, ambas vías de administración permitieron extenderse a todo el cuerpo adiposo orbital (Ripart, J., *et al*., Anesthesiology 94(1): 56-62 (2001)). Las imágenes de inyecciones perioculares de medio de contraste ilustraron esto, ya que la propagación intraconal a extraconal se observa con la inyección retrobulbar y la propagación extraconal a intraconal se observa con la inyección peribulbar (Ropo, A., *et al*., Br J Ophthalmol 75(7): 417-420 (1991), Ripart 2001). El minicerdo se seleccionó como un modelo animal grande debido a su similitud con la anatomía ocular humana y la falta de unión de teprotumumab al minicerdo IGF1R, evitando de esta manera la disposición del fármaco mediada por diana.

Inyección retrobulbar (RB) de AAV9.CAG-anti-IGF1r (ITR a ITR: SEQ ID NO: 70), AAV8.CAG-mCherry (ITR a ITR: SEQ ID NO: 76), y AAV9.CAG-mCherry (ITR a ITR: SEQ ID NO: 76) a Minicerdos de Göttingen sin tratamiento previo (ver **Tabla 21**). Se incluyeron en el estudio minicerdos de Göttingen sin tratamiento previo, todas hembras. Los animales de origen tenían aproximadamente 5 a 6 meses de edad y pesaban aproximadamente 10 a 15 kg al comienzo del estudio (es decir,

en la primera dosificación). En total, se probaron 15 animales, 13 animales se asignaron a los brazos de estudio, 2 animales se mantuvieron como animales de repuesto.

Tabla 21. Construcciones de AAV usadas en el Ejemplo 1

Descripción (SEQ ID NO)	**Secuencia de Ácidos Nucleicos**
Genoma del vector EC #4/ITR-CAG.anti-IGF1r-ITR (SEQ ID NO: 70)	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcg tcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgca gagagggagtggccaactccatcactaggggttccttagtattaaac gcgtgtcgacattgattattgactagttattaatagtaatcaattac ggggtcattagttcatagcccatatatggagttccgcgttacataac ttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgccca ttgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggac tttccattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactgcccact tggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgac gtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgac cttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcg ctattaccatgggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccc catctccccccccctccccacccccaattttgtatttatttatttttt aattattttgtgcagcgatgggggcgggggggggggggcgcgcgcc aggcggggcggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggagag gtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttccttttt atggcgaggcggcggcggcggcccctataaaaagcgaagcgcgcg gcgggcgggagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccg ccgccgcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgttactc ccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcctccgggctgtaatta gcgcttggtttaatgacggctcgtttcttttctgtggctgcgtgaaa gccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcg gggggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctc cgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcgggcgcggcgcggggcttt gtgcgctccgcagtgtgcgcgagaggagcgcggccgggggcggtgcc acgcggtgcgggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcgggg tgtgtgcgtgggggggggtgagcaggggggtgtgggcgcggcggtcggg ctgtaacccccccccctgcacccccctccccgagttgctgagcacggcc cggcttcgggtgcggggctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgcc gtgccgggcgggggggtggcggcgggtgggggtgccgggcggggcggg gccgcctcgggccggggagggctcgggggaggggcgcggcggccccc ggagcgccggcggctgtcgaggcgcggcgagccgcagccattgcctt ttatggtaatcgtgcgagagggcgcagggacttcctttgtcccaaat ctgtgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcacccccctctagcg ggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggg gagggccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtccccttctccctctcca

	gcctcggggctgtccgcgggggacggctgccttcgggggggacggg gcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcggtctagactct gctaaccatgttcatgccttcttctctttcctacagctcctgggcaa cgtgctggttgttgtgctgtctcatcattttggcaaagaattcaagc ttccagctagcgccaccatgcacagctccgccctgctctgctgtttg gtgcttctgacaggagtcagggctcaggttgagttagtggaatctgg agggggtgtagtgcaacctggcagatcacagaggctgagttgcgcag caagtggattcacatttagctcctatgggatgcattgggtccgccag gcccctggcaagggtctagagtgggtggctatcatttggtttgatgg atcttcaacttattatgctgatagtgttagagggcgctttactataa gcagggacaactccaaaaataccctctatctgcaaatgaactctttg agagcagaagatacagctgtgtacttctgtgctagggagctgggccg cagatattttgacctttggggcagaggaactcttgtctctgtatcct cagcaagtaccaaggggccatctgtgttcccgctggccccctcttcc aaaagtacatcaggtggcaccgcggctctgggatgcttggttaagga ttactttcctgaaccagtgactgtcagctggaatagtggggccttga cttctggggtgcacacattccccgcagtccttcagtccagcggtctg tattcattatccagtgtggttacagtgccttctagctccctgggaac tcagacctacatctgtaatgtaaatcataaaccaagcaacacaaagg tggacaagaaagttgagcccaagtcttgtgataaaacccacacttgt ccgccttgcccagcccctgagctacttgggggcccttcagttttct gttcccacccaagcctaaagacacattgatgattagtaggactcctg aagtgacctgtgttgtggtggatgtttcccatgaggacccagaagta aagttcaattggtatgtggatggagttgaggtgcacaatgctaagac taaaccgagggaagagcagtataatagcacatacagagttgtgtcag ttctgacagtgcttcaccaagactggctcaatggaaaggagtataaa tgcaaggtatctaataaggccctgcccgcacctattgaaaaaactat ttcaaaggctaaagggcagccaagggagccccaggtctacaccctgc ctccatccagagatgaattaacaaagaaccaggtgagtctcacttgc ctggttaaaggtttttatccctctgatattgctgtggagtgggagtc taatggccaaccagaaaataactacaagaccacacctccagtcttgg actctgatggaagcttctttctttactcaaagctgactgtggacaaa agtagatggcagcaggggaatgtgttcagctgttctgttatgcatga ggcgctacacaaccattatacccagaagtctctcagtctgtcacctg gcaaaagaaagagaaggagtggctcaggagcccctgtgaaacagacc ctgaactttgacctcttgaagcttgctggggatgtggagtctaatcc tggtccaatgtacagaatgcagctgctcagctgcattgccttgtccc ttgctctggtgaccaactctgagattgtcttaacacaatcacccgca actctgagtctaagtcctggagaaagagcaactctcagctgtagggc ctcccagtctgtttcaagttatctggcttggtaccagcaaaagccag gacaggccccgcgcttgctgatatatgatgcaagcaaaagggccaca gggatccccgctagattcagcggttctggcagcggaacagattttac tcttaccatttcctcacttgagcctgaagactttgcagtgtactatt gccagcagcggagtaagtggccaccctggacatttgggcaaggcacc aaagtagagagcaagagaactgtggccgcgccttctgtcttcatctt tccaccctctgatgaacagctgaaatcaggtactgcttcagtggttt

5
10
15
20
25

	gtctgctcaataacttctacccaagggaggccaaggtgcagtggaag gttgacaatgcattgcagagcggaaacagtcaagagtctgtaacaga acaggattccaaagacagcacctattcactttccagtactctgacct tatctaaggctgattatgagaaacacaaggtgtatgcttgtgaagtt acacatcaggggctgagctcccctgtgaccaaaagctttaataggggg ggagtgttagcaattgctgtgccttctagttgccagccatctgttgt ttgcccctcccccgtgccttccttgaccctggaaggtgccactccca ctgtcctttcctaataaaatgaggaaattgcatcgcattgtctgagt aggtgtcattctattctgggggggtggggtggggcaggacagcaaggg ggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgcggtgggct ctatggagctcgagaggaacccctagtgatggagttggccactccct ctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcc cgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagcgcg cagctgcagatctg
ITR-CAG-mCherry-ITR (SEQ ID NO: 76)	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcg tcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgca gagagggagtggccaactccatcactaggggttccttagtattaaac gcgtGtcgacattgattattgactagttattaatagtaatcaattac ggggtcattagttcatagcccatatatggagttccgcgttacataac ttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgccca ttgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggac tttccattgacgtcaatgggtggactatttacggtaaactgcccact tggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgac gtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgac cttatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcg ctattaccatgggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccc catctccccccccctccccaccccaattttgtatttatttatttttt aattattttgtgcagcgatgggggcgggggggggggggcgcgcgcc aggcggggcggggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggagag gtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttccttttt atggcgaggcggcggcggcggcccctataaaaagcgaagcgcgcg gcgggcgggagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccg ccgccgcctcgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgttactc ccacaggtgagcgggcgggacggcccttctcctccgggctgtaatta gcgcttggtttaatgacggctcgtttcttttctgtggctgcgtgaaa gccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggggagcggctcg gggggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctc cgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcgggcgcggcgcggggcttt gtgcgctccgcagtgtgcgcgagaggagcgcggccgggggcggtgcc acgcggtgcgggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcgggg tgtgtgcgtgggggggggtgagcaggggggtgtgggcgcggcggtcggg ctgtaacccccccccctgcacccccctccccgagttgctgagcacggcc cggcttcgggtgcggggctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgcc gtgccgggcgggggggtggcggcgggtgggggtgccgggcggggcggg gccgcctcgggccggggagggctcgggggaggggcgcggcggccccc ggagcgccggcggctgtcgaggcgcggcgagccgcagccattgcctt

	ttatggtaatcgtgcgagagggcgcagggacttcctttgtcccaaat ctgtgcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcacccccctctagcg ggcgcggggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggg gagggccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtcccccttctccctctcca gcctcggggctgtccgcgggggggacggctgccttcgggggggacggg gcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcggtctagactct gctaaccatgttcatgccttcttctctttcctacagctcctgggcaa cgtgctggttgttgtgctgtctcatcattttggcaaagaattcaagc ttccagctagcgccaccatggtgagcaagggcgaggaggataacatg gccatcatcaaggagttcatgcgcttcaaggtgcacatggagggctc cgtgaacggccacgagttcgagatcgagggcgagggcgagggccgcc cctacgagggcacccagaccgccaagctgaaggtgaccaagggtggc cccctgcccttcgcctgggacatcctgtcccctcagttcatgtacgg ctccaaggcctacgtgaagcaccccgccgacatccccgactacttga agctgtccttccccgagggcttcaagtgggagcgcgtgatgaacttc gaggacggcggcgtggtgaccgtgacccaggactcctccctgcagga cggcgagttcatctacaaggtgaagctgcgcggcaccaacttccccct ccgacggccccgtaatgcagaagaagaccatgggctgggaggcctcc tccgagcggatgtaccccgaggacggcgccctgaagggcgagatcaa gcagaggctgaagctgaaggacggcggccactacgacgctgaggtca agaccacctacaaggccaagaagcccgtgcagctgcccggcgcctac aacgtcaacatcaagttggacatcacctcccacaacgaggactacac catcgtggaacagtacgaacgcgccgagggccgccactccaccggcg gcatggacgagctgtacaagtagcaattgctgtgccttctagttgcc agccatctgttgtttgcccctcccccgtgccttccttgaccctggaa ggtgccactcccactgtcctttcctaataaaatgaggaaattgcatc gcattgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtggggtggggc aggacagcaagggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggg gatgcggtgggctctatggagctcgagaggaacccctagtgatggag ttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcg accaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtga gcgagcgagcgcgcag
Genoma del vector ITR-smCBA-mCherry-ITR (SEQ ID NO: 77)	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcg tcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgca gagagggagtggccaactccatcactaggggttccttagtattaaac gcgtgtcgacctagttattaatagtaatcaattacggggtcattagt tcatagcccatatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatg gcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaata atgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacg tcaatgggtggactatttacggtaaactgcccacttggcagtacatc aagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggt aaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactt tcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatgg tcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatctccccccc tccccacccccaattttgtatttatttatttttaattattttgtgc agcgatgggggcgggggggggggggggcgcgcgccaggcggggcgg

	ggcggggcgaggggcggggcggggcgaggcggagaggtgcggcggca gccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttccttttatggcgaggcg gcggcggcggcggccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggag tcgctgcgacgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgccgcctc gcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtga gcgggcgggacggcccttctcctccgggctgtaattagcgcttggtt taatgacggcttgtttcttttctgtggctgcgtgaaagccttgaggg gctccgggagctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttctt tttcctacagctcctgggcaacgtgctggttattgtgctgtctcatc attttggcaaagcggccgcaagcttgaattcatttaaatccagctag cgccaccatggtgagcaagggcgaggaggataacatggccatcatca aggagttcatgcgcttcaaggtgcacatggagggctccgtgaacggc cacgagttcgagatcgagggcgagggcgagggccgcccctacgaggg cacccagaccgccaagctgaaggtgaccaagggtggcccccctgccct tcgcctgggacatcctgtcccctcagttcatgtacggctccaaggcc tacgtgaagcaccccgccgacatccccgactacttgaagctgtcctt ccccgagggcttcaagtgggagcgcgtgatgaacttcgaggacggcg gcgtggtgaccgtgacccaggactcctccctgcaggacggcgagttc atctacaaggtgaagctgcgcggcaccaacttcccctccgacggccc cgtaatgcagaagaagaccatgggctgggaggcctcctccgagcgga tgtaccccgaggacggcgccctgaagggcgagatcaagcagaggctg aagctgaaggacggcggccactacgacgctgaggtcaagaccaccta caaggccaagaagcccgtgcagctgcccggcgcctacaacgtcaaca tcaagttggacatcacctcccacaacgaggactacaccatcgtggaa cagtacgaacgcgccgagggccgccactccaccggcggcatggacga gctgtacaagtagcaattgctgtgccttctagttgccagccatctgt tgtttgcccctcccccgtgccttccttgaccctggaaggtgccactc ccactgtcctttcctaataaaatgaggaaattgcatcgcattgtctg agtaggtgtcattctattctgggggggtggggtggggcaggacagcaa gggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgcggtgg gctctatggagctcgagaggaacccctagtgatggagttggccactc cctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtc gcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcgagcgagc gcgcag

Los animales preseleccionados para títulos de anticuerpos neutralizantes de AAV8 y AAV9 ≤1:10 (ver "Recolección de suero" a continuación) se asignaron a los grupos de estudio de acuerdo con los Procedimientos Operativos Estándar de Investigación Potenciada (SOP). Específicamente, los animales se asignaron a grupos mediante

un esquema de aleatorización estratificado diseñado para lograr el peso promedio promedio en cada grupo. Todos los animales que se sometieron a exámenes oculares de línea base normales (ver "Examen ocular (OE)" a continuación) se consideraron para la inscripción. Los animales se identificaron de forma única por el número de marca auricular.

Los animales (es decir, minicerdos de Göttingen sin tratamiento previo) se aclimataron al entorno de estudio durante un mínimo de 1 semana antes de la inyección de AAV9.anti-IGF1r, AAV8.mCherry y AAV9.mCherry.

Formulación de AAV:

AAV9.anti-IGF1r, AAV8.mCherry y AAV9.mCherry, como se describe en la **Tabla 22**, se almacenaron a -80°C y se diluyeron antes de la inyección. El vehículo de inyección fue 1x PBS, 5% de sorbitol, 0.001% de ácido plurónico F68 y se mantuvo a 4°C.

Tabla 22. Formulaciones de AAV

AAV	AAV9.CAG.anti-IGF1r	AAV8.CAG.mCherry	AAV9.CAG.mCherry
Lote	1	1	1
Concentración	7.10E13 vg/mL	3.60E13 vg/mL	3.0e13vg/mL

Administración Retrobulbar (RB) (Grupos 1-4):

Procedimiento prequirúrgico:

El día anterior a la cirugía, se administró a los

animales 5.0 mg/kg de metil-prednisolona (IM).

Sedación:

Los animales no fueron alimentados en la mañana del procedimiento. El día de la inyección (Día 1), los animales recibieron 0.05 mg/kg de atropina o 0.01 mg/kg de glicopirrolato por vía intramuscular (IM). Los animales se anestesiaron con ketamina (10 mg/kg)/dexmedetomidina (0.05 mg/kg) IM y también recibieron 0.01-0.05 mg/kg de buprenorfina IM. Se usó isoflurano inhalado (3% en oxígeno) para mantener un plano anestésico profundo. El área alrededor del ojo, incluido el párpado, se limpió con una solución al 10% de champú para bebés con gasa. Luego, el champú se enjuagó con solución salina estéril y se aplicó una solución tópica de betadina al 5% durante 2 minutos, seguido de enjuague con solución salina estéril.

Procedimiento Quirúrgico:

Usando un aplicador de punta de algodón estéril empapado en betadina al 1%, se frotó el fondo de saco conjuntival y debajo del tercer párpado, seguido de enjuague con solución salina estéril. Después de la preparación quirúrgica, se aplicó una gota de 0.5% de proparacaína HCL y 10.0% de fenilefrina HCL por vía tópica al ojo. La conjuntiva se agarró suavemente con fórceps de colibrí y el ojo se giró por vía nasal inferior, se insertó una aguja de calibre 27 de 1.25 pulgadas (3.175 cm) en la conjuntiva temporal inferior

para administrar aproximadamente 250 µL de solución en el espacio retrobulbar y la inyección se realizó durante una infusión de 10 segundos (ver, por ejemplo, Figura 1). La aguja se mantuvo en su lugar durante 30 segundos adicionales antes de la retracción. Después de la inyección, se aplicó una presión suave en el lugar de la inyección con un aplicador con punta de algodón a medida que la aguja se retiraba lentamente. Después del procedimiento, se aplicó 1 gota de solución oftálmica de Neomicina Polimixina B Dexametasona a la superficie ocular. Las inyecciones se realizaron en ambos ojos. Después de completar el procedimiento de inyección de RB, los animales recibieron atipamezol (0.5 mg/kg) IM para revertir la dexmedetomidina y se les permitió recuperarse normalmente del procedimiento.

Atención postoperatoria:

A los animales se les administró otra gota tópica de neomicina polimixina B dexametasona 4-6 horas después de la cirugía, y luego se administró durante 2 días adicionales. A los animales se les administró acetato de prednisolona tópico (1%) BID al día durante el resto del estudio. A los animales se les administró 5.0 mg/kg de metil-prednisolona (IM) diariamente durante una semana después de la cirugía. A los animales se les administró 2.5 mg/kg de metil-prednisolona (IM) cada dos días de la semana 2, y luego 1.25 mg/kg cada dos días durante el resto del estudio.

Administración Intramuscular Extraocular (EOIM) (Grupo 5):

Procedimiento prequirúrgico:

El día anterior a la cirugía, se administró a los animales 5.0 mg/kg de metil-prednisolona (IM).

Sedación:

Los animales no fueron alimentados en la mañana del procedimiento. El día de la inyección (Día 1), los animales recibieron 0.01-0.05 mg/kg de buprenorfina por vía intramuscular (IM) y se aplicó un midriático tópico (1.0% de tropicamida HCL) al menos 15 minutos antes de la anestesia. Los animales recibieron 0.05 mg/kg de atropina o 0.01 mg/kg de glicopirrolato IM. Los animales se anestesiaron con ketamina (10 mg/kg)/dexmedetomidina (0.05 mg/kg) por vía intramuscular. Se usó isoflurano inhalado (3% en oxígeno) para mantener un plano anestésico profundo. El área alrededor del ojo, incluido el párpado, se limpió con una solución al 10% de champú para bebés con gasa. El champú se enjuagó con solución salina estéril y se aplicó una solución tópica de betadina a 5% durante 2 minutos, seguido de enjuague con solución salina estéril.

Procedimiento Quirúrgico:

Usando un aplicador de punta de algodón estéril empapado en 1% de betadina, se frotó el fondo de saco conjuntival y debajo del tercer párpado, seguido de enjuague

en solución salina estéril. Después de la preparación quirúrgica, se aplicó una gota de 0.5% de proparacaína HCL y 10.0% de fenilefrina HCL. La conjuntiva se agarró suavemente con fórceps de colibrí y el ojo se giró nasalmente. Se realizó una pequeña incisión conjuntival para exponer el músculo recto lateral. La inyección se realizó con una aguja de calibre 30 para administrar aproximadamente 12 µL de solución en el músculo recto lateral (infusión de 10 segundos). La aguja se mantuvo en su lugar durante 30 segundos adicionales antes de la retracción. Después de la inyección, se aplicó una presión suave en el lugar de la inyección con un aplicador con punta de algodón a medida que la aguja se retiraba lentamente. Luego, la incisión conjuntival se cerró con sutura usando vicryl 7-0. Después del procedimiento, se aplicó 1 gota de solución oftálmica de Neomicina Polimixina B Dexametasona a la superficie ocular. Las inyecciones se realizaron en ambos ojos. Después de completar el procedimiento de inyección de EOIM, los animales recibieron atipamezol (0.5 mg/kg) IM para revertir la dexmedetomidina y se les permitió recuperarse normalmente del procedimiento.

Atención postoperatoria:

A los animales se les administró otra gota tópica de neomicina polimixina B dexametasona 4-6 horas después de la cirugía, y luego se administró durante 2 días adicionales. A

los animales se les administró acetato de prednisolona tópico (1%) BID al día durante el resto del estudio. A los animales se les administró 5.0 mg/kg de metil-prednisolona (IM) diariamente durante una semana después de la cirugía. A los animales se les administró 2.5 mg/kg de metil-prednisolona (IM) cada dos días de la semana 2, y luego 1.25 mg/kg cada dos días durante el resto del estudio.

Dosificación:

A los animales en el brazo de ach (es decir, grupo) se les administraron las dosis diana de AAV listadas en la **Tabla 23.** Los volúmenes diana también se listan en la **Tabla 23.**

Tabla 23. Dosis diana de AAV/vehículo y volúmenes diana

Grupo	Número de Animales	Tratamiento	Diana Dosis	Volumen Diana (µL)/ ROA
1	1	Vehículo	N/A	250 µL/Retrobulbar (RB)
2	3	AAV9.CAG.anti-IGF1r	1E12 vg/ojo	
3	3	AAV8.CAG.mCherry	1E12 vg/ojo	
4	3	AAV9.CAG.mCherry	1E12 vg/ojo	
5	3	AAV9.CAG.mCherry	3.6E11 vg/ojo	12 µL/Extraocular intramuscular (EOIM)

Parámetros Medidos:

Todos los animales se sometieron a observaciones clínicas laterales de la jaula dos veces al día con especial

atención a los ojos. Se registró cualquier hallazgo anormal o adverso.

Todos los animales se evaluaron para determinar la morbilidad dos veces al día, por la mañana y por la tarde.

Todos los animales se pesaron antes de la dosificación, semanalmente y en el momento de la necropsia.

Un oftalmólogo veterinario realizó exámenes oculares completos usando un biomicroscopio con lámpara de hendidura y una lente oftalmoscópica indirecta para evaluar las observaciones clínicas del segmento anterior y posterior para todos los animales al inicio del estudio y en el día 22. Se usó el sistema de calificación ocular de Hackett y McDonald para la puntuación. Se administró un midriático tópico después del examen del segmento anterior para facilitar el examen del segmento posterior. Los animales no fueron tranquilizados para los exámenes.

Se extrajo al menos 1.0 mL (1.0 mL antes de la dosis, 11.0 mL el Día 8 y 22) de sangre completa de la yugular u otra vena adecuada en tubos rojos para la recolección de suero; se pueden haber usado venas alternativas y se documentó la ubicación de cada extracción de sangre. Después de la recolección, los tubos se dejaron coagular durante al menos 30 minutos a temperatura ambiente. Las muestras se centrifugaron a 4°C durante 15 minutos a 2000 g en una centrífuga refrigerada de cubo oscilante. Dentro de los 60

minutos posteriores al tiempo de recolección de sangre, la recolección de suero se dividió, con 100 µL transferidos a cuatro tubos de polipropileno preetiquetados, luego el suero restante se transfirió a un tubo (~5 mL) congelado instantáneamente y se almacenó congelado a -80° C hasta que se usaron para análisis adicionales (por ejemplo, ensayos de ensayo de anticuerpos neutralizantes (Nab) y evaluación de proteínas de teprotumumab).

Se recolectó suero para la predosis, y en los días 8, 15 y 22, para el grupo 3-5 en el día 22.

Se extrajo al menos 1.5 mL de sangre completa de la vena yugular u otra vena adecuada en dos tubos de anticoagulante qPCR K2EDTA (0.5 mL por tubo) y dos (100 µL por tubo) tubos de protección de ARN Qiagen (catálogo #76544) para la recolección de sangre completa; se pueden haber usado venas alternativas, y se documentó la ubicación de cada extracción de sangre. Los tubos se invirtieron 8-10 veces y luego se congelaron y almacenaron a -80 °C hasta que se usaron para análisis adicionales.

Se recolectó sangre completa antes de la dosis y el día 22 para todos los grupos.

Las lágrimas se recolectaron de los animales designados de la siguiente manera: las tiras de prueba de lágrimas de Schirmer (STT) previamente pesadas se colocaron en el fondo de saco de cada ojo y se dejaron reposar durante

30 segundos para la recolección de lágrimas. Las tiras de STT se recolectaron de los animales designados en tubos libres de DNasa/RNasa, se congelaron instantáneamente y se almacenaron a -80° C hasta que se usaron para análisis adicionales.

Se recolectaron lágrimas para el grupo 1 antes de la dosis y en los días 8, 15 y 22.

Recolecciones de Tejidos:

Después de los exámenes finales y las recolecciones de sangre en los días como se indicó anteriormente, los animales fueron sacrificados. Inmediatamente después de la eutanasia, la cabeza se perfundió con una solución de enjuague de 3 litros enfriada (enfriada con hielo) de solución salina heparinizada (10 U/mL) para remover la sangre de los tejidos diana, evitar el ruido de fondo para las secciones de inmunofluorescencia y prevenir la contaminación de la sangre durante la recolección de tejidos.

La necropsia y la recolección de tejidos iniciaron en los animales de control del vehículo, seguidos de los animales dosificados. Se tuvo cuidado de garantizar que no se produjera contaminación cruzada entre los tejidos.

Ojo Derecho:

Se pesaron todos los tejidos recolectados del ojo derecho para el análisis molecular (aproximadamente 50-200 mg por muestra de tejido, en 2-4 piezas) y se registró el peso antes de colocar los tejidos recolectados en un criovial

libre de DNasa/RNasa de 2 mL precargado con 1.5 mL de RNAlater ICE. Cada tejido se sumergirá en RNAlater ICE y se colocará a 2-8°C durante 18-24 horas antes de la remoción del RNAlater ICE y almacenar el tejido a ≤-70°C.

Ojo Izquierdo:

Todos los tejidos del ojo izquierdo se fijaron en formalina, 10% de NFB, para incrustación en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés). Cada pieza tenía aproximadamente 1 cm de espesor (preferentemente 5-7 mm). La relación de tejido a formalina fue de un mínimo de 1:10 durante 24 horas a TA (20-25 °C) y luego se enjuagó con etanol al 70% antes de almacenarlo en etanol al 70% a 4 °C. El intercambio a etanol al 70% no se realizó antes de 24 horas de incubación en el fijador.

Recolección de muestras:

El eje visual se colocó con precisión para identificar correctamente cada uno de los músculos. Preferiblemente se realizó una exenteración total (es decir, extirpación completa que incluye los párpados y todos los tejidos orbitales), preservando la región periorbital que incluye el canal óptico y la fisura orbital superior. El globo ocular derecho se giró 180 grados para identificar cada estructura muscular. El tejido adiposo de detrás del ojo se recolectó antes de recolectar toda la longitud de los siguientes músculos. El ojo derecho se usó para el trabajo

molecular y el ojo izquierdo se incrustará en formalina.

Los siguientes procedimientos se usaron para los ensayos de número de copias de AAV8.CAG.mCherry y AAV9.CAG.mCherry (Grupos 1, 3-5). El humor acuoso del ojo derecho (OD) se removió mediante una jeringa de calibre 27 o 30. El humor acuoso removido se dividió por la mitad en dos tubos previamente pesados, los tubos se pesaron nuevamente para evaluar la cantidad del humor acuoso removido y se congelaron instantáneamente por inmersión en nitrógeno líquido. Todo el globo del ojo derecho estaba enucleado dejando aproximadamente 1 mm del nervio óptico unido al globo. El globo entero restante del ojo derecho se congeló instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C. Los tejidos oculares se diseccionaron mientras se congelaban de acuerdo con los procedimientos de disección de tejido ocular de Powered Research. Todos los tejidos recolectados del ojo derecho para el análisis molecular se pesaron antes de colocar los tejidos recolectados en 2 mL de criovial libre de DNasa/RNasa precargado con 1.5 mL de RNAlater ICE para tejidos diseccionados congelados. También se recolectaron tejidos extraoculares, incluida la mayor cantidad posible del nervio óptico, y se enjuagaron brevemente en PBS si estaban contaminados con sangre. Cada pieza de tejido se sumergió individualmente en RNAlater ICE para tejidos diseccionados congelados y se colocó a 2-8°C durante 18-24 horas antes de

la extracción del RNAlater y el almacenamiento del tejido a ≤ -70°C.

Se usaron los siguientes procedimientos para el análisis molecular de los niveles de anticuerpos de teprotumumab y para el número de copias del vector (Grupo 2). Después de la eutanasia y la confirmación de la muerte, se extrajo el humor acuoso de ambos ojos (OU) mediante una jeringa de calibre 27 o 30, en tubos previamente pesados, se pesó y se congeló instantáneamente sumergiéndolo en nitrógeno líquido. El globo entero de ambos ojos se enucleó y se congeló instantáneamente sumergiéndolo en nitrógeno líquido. Los tejidos oculares se diseccionaron mientras se congelaban de acuerdo con los procedimientos de disección de tejido ocular de Powered Research. También se recolectaron tejidos extraoculares y se enjuagaron brevemente en PBS si estaban contaminados con sangre. Cada pieza de tejido se dividió por la mitad a lo largo del plano sagital medio (mitades nasal y temporal), se colocó en dos tubos individuales y se congeló instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C.

Se usaron los siguientes procedimientos para el análisis histopatológico (Grupos 1, 3-5). Después de la eutanasia y la confirmación de la muerte, el ojo izquierdo (OS) se marcó en el globo (esclerótica) en la posición de las 12 en punto. El ojo izquierdo se enucleó inmediatamente y se fijó en la solución de Davidson durante 24 horas, seguido de

etanol al 70%. Todos los tejidos oculares, extraoculares y periféricos adicionales se fijaron en formalina, 10% de NFB, para incrustación en parafina (FFPE). Cada pieza tenía <1 cm de espesor (preferentemente 5-7 mm). La relación de tejido a formalina fue un mínimo de 1:10 durante 24 horas (se registró el tiempo de inicio de la fijación, no se cambió a 70% de etanol al en menos de 24 horas con el fijador) a TA (20-25 °C), luego se enjuagó con etanol al 70% antes de almacenarlo en etanol al 70% a 4 °C.

Tinción IHC:

Los tejidos oculares del ojo izquierdo se seccionaron a 5 µm y se tiñeron con anti-mCherry y DAB (3,3'-diaminobencidina) como cromógeno para formar un precipitado marrón, en la ubicación del polímero HRP o anticuerpo secundario. Un patólogo usó un sistema de puntuación semicuantitativo con dos métricas descriptivas para la tinción IHC para generar datos cualitativos. La puntuación de presencia se refiere a la cantidad de células positivas en toda la sección que van de 0 a 5 (puntuación: 0=ausente, 1=mínimo con 1-10%, 2=medio con 11-25%, 3=moderado con 26-50%, 4=marcado con 51-75% y 5=grave con >75% de + células), mientras que la puntuación de intensidad fue un tono de color general de tinción positiva dividida en 4 categorías: 0=ausencia de tinción positiva, 1=Débil, 2= Intensidad intermedia entre patrón débil y fuerte y/o mixto sin

categoría de tinción superior al 50% y 3= tinción fuerte.

Se diseccionaron los siguientes tejidos de la región ocular/orbital: tejido adiposo extraocular, músculos rectos laterales extraoculares, músculos rectos mediales extraoculares, músculos rectos superiores extraoculares, músculos rectos inferiores extraoculares, músculos oblicuos inferiores extraoculares, músculos oblicuos superiores extraoculares, nervio óptico, retina, coroides, esclerótica, cuerpo ciliar e iris, cristalino, córnea, párpado, glándula lagrimal, saco lagrimal, oído interno, cóclea, quiasma óptico, núcleo coclear ventral, humor acuoso, humor vítreo o globo ocular completo con al menos 1 mm de nervio óptico unido.

También se diseccionaron los siguientes tejidos: cerebelo, lóbulo occipital, corteza premotora, tálamo, ganglios de la raíz dorsal (regiones cervical, torácica y lumbar), médula espinal (regiones cervical, torácica y lumbar), tiroides, ventrículos cardíacos derecho e izquierdo, pulmones, riñones, glándulas suprarrenales, bazo, médula ósea (del esternón), músculo cuádricepo, intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon), intestino grueso (colon), ganglios linfáticos (región mandibular), gónadas, hígado (cada lóbulo).

Para cada grupo, los tejidos se diseccionaron y procesaron como se indica en las **Tablas 24-25**, la cantidad de

piezas y la cantidad de tejidos diseccionados también se indican en las **Tablas 24-25.**

Tabla 24. Grupos de Tejidos Diseccionados 1, 3-5.

Ubicación del tejido	Tejido	RNAlater *(pesar el tejido antes de la incrus-tación)*	Corregido para IHC (10% de NBF)	Congelado instantáneamente	Cantidad/ Notas
Ocular/ orbital derecho	Tejido Adiposo extraocular	X	-	-	50-200 mg por pieza de tejido entero, mínimo 2 piezas
	Músculos extraoculares – Recto Lateral	X	-	-	50-200 mg por pieza de tejido entero, mínimo 2 piezas
	Músculos extraoculares – Recto Medial	X	-	-	50-200 mg por pieza de tejido entero, mínimo 2 piezas
	Músculos extraoculares – Recto Superior	X	-	-	50-200 mg por pieza de tejido entero, mínimo 2 piezas
	Músculos extraoculares – Recto Inferior	X	-	-	50-200 mg por pieza de tejido entero, mínimo 2 piezas
	Músculos extraoculares – Oblicuo Inferior	X	-	-	50-200 mg por pieza de tejido entero, mínimo 2 piezas

		Músculos extraoculares – Oblicuo Superior	X	-	-	50-200 mg por pieza de tejido entero, mínimo 2 piezas
		Nervio óptico-ocular	X	-	-	50-200 mg por 2-4 piezas (2 para ARN, 2 congelados instantáneamente)
		Ocular – retina/ coroides	X	-	-	50-200 mg por 2 desde la región sagital media
		Ocular – Esclerótica	X	-	-	50-200 mg por 2 piezas desde la región sagital media si son más de 200 mg
		Ocular – Cuerpo ciliar e iris	X	-	-	50-200 mg por 2 piezas desde la región sagital media si son más de 200 mg
		Ocular- Lente	X	-	-	50-200 mg por 2 piezas desde la región sagital media si son más de 200 mg

	Ocular-Córnea	X	-	-	50-200 mg por 2 piezas desde la región sagital media si son más de 200 mg
	Párpado Ocular	X	-	-	50-200 mg por 2 piezas
	Ocular – Glándula lagrimal	X	-	-	50-200 mg por 2 piezas
	Saco lagrimal	X	-	-	50-200 mg por 2 piezas
	Oído – Oído interno/ cóclea	X	-	-	50-200 mg por 2 piezas
	Cerebro – quiasma óptico	X	-	-	50-200 mg +si el tamaño no es superior a 100 mg, priorice la pieza para RNAlater
	Ocular – Humor acuoso	-	-	X	
	Ocular – Humor vítreo	-	-	X	
Ocular/ orbital izquierdo	Tejido Adiposo extraocular	-	X	-	50-200 mg por 2 piezas
	Músculos extraoculares – Recto Lateral	-	X	-	
	Músculos extraoculares – Recto Medial	-	X	-	
	Músculos extraoculares – Recto Superior	-	X	-	

	Músculos extraoculares – Recto Inferior	-	X	-	
	Músculos extraoculares – Oblicuo Inferior	-	X	-	
	Músculos extraoculares – Oblicuo Superior	-	X	-	
	Globo ocular completo con nervio óptico unido de 1 mm	-	X**	-	**Muestra fijada en la solución de Davidson
	Nervio óptico restante	-	X	-	
	Párpado Ocular	-	X	-	
	Ocular – Glándula lagrimal	-	X	-	
	Saco lagrimal	-	X	-	
	Oído – Oído interno/ cóclea	-	X	-	
	Humor acuoso ocular	-	-	X	
	Humor vítreo ocular	-	-	X	
OU	Lágrimas (Grupo 1) antes de la dosis, 8, 15 y 22	-	-	X	
N/A	Suero (Grupo 1: predosis, 8, 15 y 22) (Grupo 3-5:día 22)	-	-	X	
	Sangre entera (antes de la dosis y el día 22)	-	-	X	

Hemiesferio izquierdo	Cerebro: cerebelo, lóbulo occipital, corteza premotora, tálamo	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas y 2 punzones
N/A	DRG: cervical, torácico y lumbar	X	X	-	2 tubos con 2 DRG por región
	Médula espinal – cervical, torácica y lumbar	X	X	-	50-200 mg por 2 piezas por región
	Tiroides	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas y 2 punzones
	Corazón: ventrículo derecho e izquierdo	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas y 2 punzones
	Pulmón	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas y 2 punzones
	Riñón	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas y 2 punzones
	Glándula suprarrenal	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas
	Bazo	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas y 2 punzones
	Médula Ósea (Esternón)	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas
	Músculo - cuádriceps	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas y 2 punzones
	Intestino delgado – duodeno	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas

	Intestino delgado – yeyuno	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas
	Intestino delgado – íleon	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas
	Intestino grueso - colon	X	X	-	50-200 mg por 2-4 piezas
	ganglios linfáticos - mandibulares	X	X	-	50-200 mg por 2 piezas
	Gónadas	X	X	-	50-200 mg por 2 piezas
	Hígado (cada lóbulo)	X	X	-	50-200 mg por 2 piezas y un punzón por lóbulo

Tabla 25. Grupo de Tejidos Diseccionados 2.

Ubicación del tejido	Tejido	RNA*later*	Corregido para IHC	Congelado instantáneamente	Cantidad
OU *u* Ocular/ orbital izquierdo y derecho	Tejido Adiposo extraocular	-	-	X	50-200 mg por pieza de tejido entero, dividir en 2 mitades
	Músculos extraoculares – Recto Lateral	-	-	X	50-200 mg por pieza de tejido entero, dividir en 2 mitades
	Músculos extraoculares – Recto Medial	-	-	X	50-200 mg por pieza de tejido entero se dividen en 2 mitades
	Músculos extraoculares – Recto Superior	-	-	X	50-200 mg por pieza de tejido entero, dividir en 2 mitades

		Músculos extraoculares – Recto Inferior	-	-	X	50-200 mg por pieza de tejido entero, dividir en 2 mitades
		Músculos extraoculares – Oblicuo Inferior	-	-	X	50-200 mg por pieza de tejido entero, dividir en 2 mitades
		Músculos extraoculares – Oblicuo Superior	-	-	X	50-200 mg por pieza de tejido entero, dividir en 2 mitades
		Nervio óptico-ocular	-	-	X	50-200 mg por 2 piezas
		Ocular – retina/coroides	-	-	X	50-200 mg por 2 piezas desde la región sagital media
		Ocular – Esclerótica	-	-	X	50-200 mg por 2 piezas desde la región sagital media
		Ocular – Cuerpo ciliar	-	-	X	50-200 mg por 2 piezas desde la región sagital media
		Párpado Ocular	-	-	X	50-200 mg por 2 piezas
		Ocular – Glándula lagrimal	-	-	X	50-200 mg por 2-4 piezas
		Saco lagrimal	-	-	X	50-200 mg por 2 piezas

	Oído – Oído interno/cóclea	-	-	X	50-200 mg por 2 piezas
	Humor acuoso ocular	-	-	X	
	Humor vítreo ocular	-	-	X	
	Lágrimas (Grupo 2) (predosificadas, día 8, 15 y 22)	-	-	X	
N/A	Suero (Grupo 2) (predosificado, día 8, 15 y 22)	-	-	X	
	Sangre entera (predosis y 22)	-	-	X	
	Hígado (cada lóbulo)	-	-	X	50-200 mg por 2-4 piezas
	Bazo	-	-	X	50-200 mg por 2-4 piezas

Recolección de tejido de eutanasia no programada:

Siempre que fue posible después de la eutanasia no programada, se recolectaron los siguientes tejidos por ojo:

Para el ojo derecho se recolectaron 2-4 piezas por tejido (aproximadamente 50-200 mg por muestra de tejido). Los tejidos se colocaron en 2 mL de criovial libre de DNasa/RNasa precargado con 1.5 mL de RNAlater. Cada tejido se sumergió en RNAlater y se colocó a 2-8°C durante 18-24 horas antes de remover el RNAlater y almacenar el tejido a ≤-70°C.

Para el ojo izquierdo, se recolectaron los tejidos y se colocaron en 10% de formalina amortiguada neutra durante 24 horas, seguido de 70% de etanol, luego se almacenaron a

temperatura ambiente hasta su posterior análisis.

Tras la eutanasia no programada, se recolectaron los tejidos listados en la **Tabla 26.**

Tabla 26. Tejidos Diseccionados Tras la Eutanasia No Programada.

Eutanasia no programada	**<u>Ojo Derecho</u> Solución RNAlater para trabajo molecular**	**<u>Ojo Izquierdo</u> Fijador para tinción IHC**
Tejido Adiposo extraocular	X	X
Músculos extraoculares – Recto Lateral	X	X
Músculos extraoculares – Recto Medial	X	X
Músculos extraoculares – Recto Superior	X	X
Músculos extraoculares – Recto Inferior	X	X
Músculos extraoculares – Oblicuo Inferior	X	X
Músculos extraoculares – Oblicuo Superior	X	X
Globo ocular completo con nervio óptico unido de 1 mm	-	X
Ocular – retina/coroides	X	-
Ocular – Esclerótica	X	-
Ocular – Cuerpo ciliar e iris	X	-

Eutanasia no programada	**Ojo Derecho Solución RNAlater para trabajo molecular**	**Ojo Izquierdo Fijador para tinción IHC**
Ocular- Córnea	X	-
Párpado Ocular	X	X
Párpado Extraocular	X	X
Ocular – Glándula lagrimal	X	X
Saco lagrimal	X	X
Cerebro – quiasma óptico (VCN, verificar tamaño)	X	X
Oído – Oído interno/cóclea	X	X
Hígado (cada lóbulo)	X	X
Bazo	X	X
Suero	-	-
Sangre	-	-

Resultados para IHC y Copia del Genoma Vectoraial (dos minicerdos de Göttingen del Grupo 4)

Como se describe anteriormente, a los minicerdos hembra de Göttingen, preseleccionados para detectar anticuerpos neutralizantes de AAV8 y AAV9, se les administró AAV8.mCherry, AAV9.mCherry o AAV9.CAG.teprotumumab en el cono muscular a través de la conjuntiva temporal inferior (**Tabla 23**). A un grupo de control se le administró una inyección individual de AAV9.mCherry en el músculo extraocular lateral

(EOM) para evaluar la transducción vectorial para la administración muscular directa. Todos los animales se sacrificaron 3 semanas después de la administración de AAV, y los tejidos oculares se procesaron para el análisis molecular de las copias del genoma del vector, el análisis de proteínas para teprotumumab y la inmunohistoquímica mCherry (IHC), según corresponda.

Para comprender el perfil de biodistribución después de la inyección periocular y EOM, se determinaron los genomas de vectores en varios tejidos oculares, así como los sitios sistémicos, mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR). En tejido adiposo ocular, los niveles del genoma del vector de AAV9.mCherry para la administración de EOM fueron un logaritmo menor que para la administración periocular a pesar de que solo una dosis 2 veces menor (Figura 9). Dentro de las Moe, los niveles del genoma del vector fueron más similares entre las dos rutas que en el tejido adiposo.

Un animal del Grupo 4 se excluyó del análisis porque se dosificó incorrectamente en el globo ocular. Como se ilustra en la Figura 4, la inmunohistoquímica para mCherry de tejido adiposo extraocular recolectado de detrás del globo ocular izquierdo después de la inyección retrobulbar de construcciones AAV9-CAG-mCherry en minicerdos de Göttingen reveló que ambos animales tenían un alto número de adipocitos

transducidos en toda la sección. Se observó tinción positiva en el borde o membrana citoplasmática, así como en el citoplasma de los adipocitos.

Un patólogo usó un sistema de puntuación semicuantitativo para generar datos tisulares descriptivos y cualitativos. Se usaron dos métricas, presencia e intensidad. La puntuación de presencia se refiere a la cantidad de células positivas en toda la sección, que van de 0 a 5 (puntuación: 0=ausente, 1=mínimo con 1-10%, 2=medio con 11-25%, 3=moderado con 26-50%, 4=marcado con 51-75% y 5=grave con >75% de + células), mientras que la puntuación de intensidad fue un tono de color general de tinción positiva dividida en 4 categorías: 0=ausencia de tinción positiva, 1= tinción de intensidad débil, 2= intensidad intermedia entre patrón débil y fuerte y/o mixto sin categoría de tinción superior al 50% y 3= tinción fuerte.

Para evaluar la expresión de la proteína transgénica mCherry, se procesaron los tejidos musculares adiposos y extraoculares del ojo izquierdo para IHC mCherry, y la proteína se calificó semicuantitativamente para determinar su presencia e intensidad. La inyección periocular de AAV9.mCherry dio como resultado una fuerte tinción de mCherry en el 51-75% de los adipocitos y >75% de los músculos extraoculares (Figuras 7A-7B y 10). No fue evidente la expresión de la proteína mCherry en el nervio óptico en 2 de

los 3 animales en el grupo periocular AAV9.mCherry (Figuras 7A-7B). Además, no hubo tinción en el párpado, el saco lagrimal, la glándula lagrimal, el oído interno (cóclea), la corteza premotora, el tálamo, la médula espinal, la tiroides, el hígado o el corazón en ninguno de los animales (datos no mostrados). Estos datos demuestran la capacidad del AAV administrado periocularmente para transducir de manera eficiente los tejidos diana previstos (es decir, músculos extraoculares y adiposos). Es importante destacar que hubo una falta de expresión transgénica fuera del espacio orbital, incluido el cerebro, la médula espinal y los tejidos periféricos seleccionados. De manera similar, en el hígado, donde se detectaron genomas de vector a 1E3 vg/µg, no se observó expresión transgénica detectable y, por lo tanto, no contribuiría a la exposición transgénica sistémica.

Para evaluar la administración periocular de AAV9.CAG.teprotumumab (Grupo 2), se evaluó la proteína teprotumumab en suero y tejidos orbitales. Se detectó teprotumumab en todos los músculos extraoculares (~58 µg/mL, Figura 11B), teniendo el recto superior el promedio más bajo por músculo. La grasa fue menor en promedio (~18 µg/mL) que el músculo. Los niveles del genoma del vector, medidos por qPCR, para cada ojo fueron comparables en todos los músculos extraoculares, entre cada ojo y en todos los animales (Figura 12). Esto indica que en los minicerdos, la administración

periocular permite una transducción equivalente y reproducible de tejidos extraoculares que conduce a una exposición constante a teprotumumab en el espacio orbital. El teprotumumab sistémico apenas fue detectable en el Día 8 y aumentó lentamente hasta el Día 22 (Figura 11A), pero permaneció más de 100 veces más bajo que los niveles en el espacio orbital (Figura 11B). Además, debido a que el teprotumumab no se une al minicerdo IGF1R, el impacto de la disposición del fármaco mediada por diana en la fuga sistémica de teprotumumab no afecta los resultados de este estudio.

En resumen, la administración periocular (retrobulbar) de AAV9.mCherry produjo una tinción robusta en el tejido diana (músculos extraoculares y adiposos) con una propagación limitada más allá del nervio óptico y en los tejidos periféricos. Además, el AAV9.CAG.teprotumumab periocular condujo a una expresión robusta de la proteína teprotumumab en el músculo extraocular y el tejido adiposo con una modesta detección sistémica de proteínas.

Curiosamente, todos los músculos extraoculares tuvieron el perfil de transducción más fuerte entre los tejidos oculares recolectados con casi el 100% de los miocitos positivos para mCherry a lo largo de la longitud de cada músculo (Figuras 5 y 7A-7B; tenga en cuenta las puntuaciones de alta intensidad en los tejidos musculares

extraoculares). Todas las secciones tenían un patrón de mosaico de miocitos teñidos de marrón intenso a más claros.

En la sección transversal representativa del ojo (Figura 6), ambos animales demostraron perfiles de transducción muy similares con una ausencia de tinción positiva para mCherry en diferentes regiones intraoculares, incluidas la retina, la córnea, las capas nucleares externas y el nervio óptico unido al globo ocular. Se observó una tinción de fuerte a variablemente irregular en los miocitos, con menos del 25% de los miocitos individuales dentro de la sección y los adipocitos detrás del globo ocular con tinción positiva para mCherry. Además, los fragmentos de nervio óptico restantes en dos animales fueron negativos para la tinción de mCherry y la única tinción residual de mCherry se observó en el tejido conectivo fibroso perióptico y los adipocitos adherentes que rodean el nervio óptico.

Otros tejidos analizados para la puntuación de IHC, incluidos el párpado, el saco lagrimal, la glándula lagrimal, la corteza premotora, el tálamo, la médula espinal, la tiroides, el corazón y el hígado, tuvieron una puntuación cero o ausencia de mCherry positivo teñido en todos los animales (datos no mostrados). Ambos animales tuvieron una baja detección de VCN en el hígado. Un animal no tenía VCN detectable en el tálamo, mientras que el otro mostró VCN bajo en el tálamo pero no expresión detectable de mCherry. Ninguno

de los animales tuvo tinción de mCherry detectable en ninguna de las regiones cerebrales, el CNS o los tejidos periféricos. La expresión de VCN y mCherry se correlacionó en los tejidos entre los ojos derecho e izquierdo. No se observó expresión por IHC en el cerebro, la médula espinal y los tejidos periféricos.

Las copias del genoma del vector en todos los tejidos recolectados se determinaron usando un ensayo de qPCR dirigido a la región poliA de bGH ubicada en el extremo 3' del transgén encontrado dentro de los vectores del artículo de prueba. Se diseñaron cebadores y sondas únicos para esta región y se confirmó la especificidad del ensayo durante el ensayo de calificación. Los tejidos recolectados se conservaron en RNAlater durante 18-24 horas a 4 °C antes de decantar la solución de RNAlater y almacenar el tejido conservado a -60 °C a -80 °C para qPCR. Se analizaron hasta 1000 ng de ADN de muestra total para los tejidos hepáticos; 500 ng para los tejidos adiposos y 100 ng para los tejidos musculares.

Se observó una fuerte correlación entre la puntuación de IHC en tejidos oculares y VCN en el ojo gemelo, como se muestra en la Figura 8. Los 6 músculos extraoculares tenían un VCN alto en relación con otros tejidos periféricos que variaban de 10^4 a 10^5 consistentemente en los 3 animales a pesar del animal con el perfil de transducción diferente.

Para el tejido adiposo, a pesar de la consistencia observada en los músculos extraoculares de todos los animales, el tercer animal tuvo un VCN bajo en el tejido adiposo, 10^2 en comparación con los otros dos animales que tuvieron el VCN más alto entre todos los tejidos evaluados, que van desde 10^5 hasta 10^6. Se observó VCN en la pieza restante del nervio óptico en todos los animales. Sin embargo, el análisis microscópico de la misma muestra de tejido del otro ojo mostró tejido conectivo fibroso perióptico y adipocitos adherentes que mostraron una tinción positiva fuerte a intermedia. Por lo tanto, la presencia de VCN en la muestra de nervio óptico probablemente se debió a la contaminación con tejido conectivo transducido y adipocitos, en lugar de la transducción del nervio óptico en sí.

En resumen, como lo demuestran IHC y VCN, las construcciones de AAV-mCherry se transdujeron de manera eficiente a los tejidos diana previstos, por ejemplo, el adiposo extraocular y los músculos, mediante inyección retrobulbar. Esta transducción estuvo acompañada por una falta de expresión transgénica fuera del espacio orbital sin detección positiva de mCherry en ninguna de las regiones cerebrales (corteza premotora y tálamo) y tejidos periféricos seleccionados, lo que fue consistente en todos los animales inyectados.

Ejemplo 2 – Administración peribulbar de anticuerpo

AAV2-anti-IGFR1

Resumen del desarrollo de productos AAV

AAV9.smCBA.teprotumumab, un producto de terapia génica de AAV en investigación, se está desarrollando como tratamiento para TED. AAV9.smCBA.teprotumumab es un vector de AAV recombinante de hebra individual modificado genéticamente para expresar el anticuerpo anti-IGF1R teprotumumab. Una cápside de AAV serotipo 9 (AAV9), que tiene una gran base de datos de seguridad clínica (Lykken, E.A., *et al*., J Neurodev Disord 10(1): 16 (2018)) y transduce efectivamente el tejido muscular (Muraine, L., Hum Gene Ther 31(3-4):233-240 (2020)), encapsula el casete transgénico. El casete de transgén de ADN empaquetado en el vector contiene repeticiones terminales invertidas (ITR) de serotipo 2 de AAV (AAV2), un potenciador temprano intermedio de citomegalovirus (CMVE) antes de un promotor central de β-actina (CBA) de pollo que contiene un intrón 1 de CBA acortado y un aceptor de corte y empalme de β-globina de conejo modificado (denominado colectivamente como un pequeño promotor de CBA [smCBA]), una secuencia de consenso de Kozak, una secuencia de ADN complementario (ADNc) que codifica las cadenas pesadas y ligeras de teprotumumab (precedido por péptidos señal de IL-10 e IL-2 de interleucina humana, respectivamente) separados por un sitio de escisión de furina acoplado a un enlazador del virus de la fiebre aftosa (FMDV) 2A (F2A) y péptido de autoescisión F2A, y una

señal de poliadenilación (poliA) de hormona de crecimiento bovino (bGH). La secuencia de nucleótidos que codifica las cadenas pesadas y ligeras de teprotumumab se ha modificado, pero conserva la secuencia de aminoácidos codificada al tiempo que reduce la aparición de hipometilación, que puede ser inmunoestimulante. La secuencia de proteínas está diseñada para escindirse, lo que da como resultado teprotumumab.

Los estudios no clínicos preliminares incluyeron construcciones alternativas de AAV9.smCBA.teprotumumab, que contenía el mismo transgén pero difería en, por ejemplo, el componente promotor (AAV9.CAG.teprotumumab). Las construcciones de AAV se describen en la **Tabla 27**.

Las construcciones alternativas usaron un promotor más largo (CAG), que comprende el potenciador temprano de CMV, con promotor del gen de β-actina de pollo, exón y primer intrón completo, y aceptor de empalme del gen de β-globina de conejo. AAV9.smCBA.teprotumumab incluye un promotor de smCBA, que mejoró la integridad del genoma del vector empaquetado en comparación con las construcciones reguladas por CAG. La señal de transgén y poliadenilación permaneció constante a través de las iteraciones de construcción. El análisis *in vitro* confirmó la similitud (es decir, la expresión y función de teprotumumab) de AAV9.smCBA.teprotumumab con construcciones alternativas.

Tabla 27 - Genealogía de diseño vectorial preclínico AAV9.teprotumumab

ID de vector	Promotor	Transgén	Señal poliA	Longitud ITR
AAV9.CAG.Teprotumumab[a]	CAG	Tepro.H-F2A-L.111	bGH	130 pb
AAV9.CAG.teprotumumab[a]	CAG	Tepro.H-F2A-L.111	bGH	141 pb
AAV9.smCBA.teprotumumab	smCBA[b]	Tepro.H-F2A-L.111	bGH	141 pb

La biodistribución para la administración periocular se evaluó en ratones de tipo silvestre y minicerdos de Göttingen (ver Ejemplo 1 anterior).

Se confirmó que la inyección peribulbar (un tipo de inyección periocular) proporciona expresión de teprotumumab al músculo orbital y al tejido adiposo en primates no humanos (NHP). Los estudios preliminares también evaluaron la expresión de teprotumumab vectorizado.

Debido a que el teprotumumab no se une al IGF1R de roedores, junto con las diferencias fisiopatológicas del TED humano presentes en los modelos TAO animales, los modelos TED de roedores no se pueden usar para caracterizar la actividad del teprotumumab. Por lo tanto, el perfil farmacológico *in vivo* de AAV9.smCBA.teprotumumab se evaluó en ratones desnudos

que portaban xenoinjertos tumorales IGF1R+ humanos. En este modelo, se demostró que AAV9.smCBA.teprotumumab reduce la expresión de IGF1R después de la inyección intratumoral.

Además, como teprotumumab se une a IGFR de mono cynomolgus y humano con cinética de unión similar (Tepezza Pharmacology/Toxicology BLA Review), se seleccionaron NHP como la especie para evaluar la PK de AAV9.smCBA.teprotumumab.

Biodistribución Después de la Administración Periocular en Ratones de Tipo silvestre.

Este estudio de 4 semanas en ratones de tipo silvestre se realizó para 1) evaluar la biodistribución murina de un gen indicador después de la inyección periocular y 2) evaluar la expresión in vivo de teprotumumab vectorizado (AAV9.smCBA.teprotumumab y AAV9.CAG.teprotumumab). Se trataron ratones hembra de tipo silvestre con una dosis individual de teprotumumab (intravenoso), mCherry vectorizado (periocular) o teprotumumab vectorizado (intramuscular) (Tabla 28). Estos son consistentes con el Roa clínico para teprotumumab (intravenoso) y AAV9.smCBA.teprotumumab (peribulbar), así como el uso de inyecciones intramusculares como control positivo de la administración local. Los grupos de teprotumumab vectorizados intramuscularmente se evaluaron en la necropsia para detectar copias del genoma del vector, ARNm y producto transgénico en el músculo del sitio de

inyección para confirmar la comparabilidad de la transducción y expresión de AAV9.smCBA.teprotumumab con la construcción alternativa AAV9.CAG.teprotumumab. El teprotumumab sérico también se monitoreó en grupos relevantes a lo largo del estudio. Para evaluar la biodistribución en el espacio orbital y sistémicamente después de la inyección periocular en el grupo de tratamiento indicador, se evaluaron los tejidos seleccionados mediante IHC para la expresión de mCherry y qPCR para los genomas de vectores.

Tabla 28 – Diseño del estudio para la Biodistribución Después de la Administración Periocular en Ratones de Tipo silvestre.

Grupo	N	Tratamiento	Dosis	Vía	Volumen (µL)
1	6	Ninguno (Desarrollo de Métodos)	-	-	-
2	6	Teprotumumab	20 mg/kg	IV	10 mL/kg
3	6	Control	-	Periocular IM	2 µL OU 25 µL por Cuádruple
4	6	AAV9.CAG.mCherry	1E10 vg/ojo	Periocular	2 µL OU
5	6	(AAV9.CAG.teprotumumab) AAV9.smCBA.teprotumumab	2E10 vg/animal	IM	25 µL por Cuádruple
6	6	(AAV9.smCBA.teprotumumab) AAV9.CAG.teprotumumab	2E10 vg/animal	IM	25 µL por Cuádruple

Nota: AAV9.CAG.teprotumumab (AAV9.CAG.teprotumumab) es una construcción alternativa a AAV9.smCBA.teprotumumab (AAV9.smCBA.teprotumumab). Las construcciones difieren por promotor. Las descripciones completas de las

construcciones se proporcionan en la Tabla 27. IM = intramuscular; IV = intravenoso; OU = ambos ojos; vg = genomas del vector.

Los niveles del genoma del vector en el cerebro y el hígado de ratones inyectados periocularmente indicaron un escape significativo del vector a los órganos periféricos (Figura 13). Estos animales también tuvieron una fuerte expresión de mCherry en los tejidos oculares y periféricamente, según lo medido por IHC (Figuras 14A-14C), lo que indica que el escape periorbital del vector fue suficiente para transducir el hígado y el corazón. El patrón de biodistribución de la inyección periocular en ratones fue más consistente con la administración retroorbital (intravenosa) frente a la transducción localizada que ocurrió en minicerdos; por lo tanto, se concluyó que la evaluación orbital aislada de AAV9.smCBA.teprotumumab en ratones no es factible.

La dosificación intramuscular de AAV9.smCBA.teprotumumab y la construcción alternativa AAV9.CAG.teprotumumab (promotores smCBA y CAG, respectivamente) produjo niveles de genoma de vector equivalentes en el cuádriceps inyectado (Figura 13). Además, ambas construcciones produjeron niveles equivalentes de teprotumumab en suero (Figura 15A), lo que respalda la expresión comparable de estas dos

construcciones *in vivo*.

Farmacocinética Orbital de Teprotumumab Intravenoso en NHP.

Aunque el perfil farmacocinético sérico de teprotumumab se ha caracterizado bien, no se han informado niveles en el espacio orbital después de la dosificación intravenosa de teprotumumab. Como tal, se realizó un estudio en NHP para evaluar la exposición tisular orbital y sistémica de teprotumumab (Tepezza) cuando se administró a través de una infusión intravenosa individual (IV) (**Tabla 29**). Se incluyeron dos grupos de dosis (20 mg/kg y 50 mg/kg); se seleccionó una necropsia 9 días después de la dosis en función de la semivida publicada para la dosis de 50 mg/kg en NHP (Revisión de Tepezza Pharmacology/Toxicology BLA). Debido al aumento del aclaramiento de teprotumumab en NHP en comparación con los humanos, se exploraron tanto una dosis clínica humana (20 mg/kg) como una dosis escalada para el aumento del aclaramiento (50 mg/kg). Se recolectó suero para el análisis de PK antes de la dosis, 0.5 y 8 horas después de la dosis, diariamente de los días 3-7 y en la necropsia el día 9. Además, se recolectaron varios tejidos, incluidos el músculo extraocular y el adiposo orbital, en la necropsia y se cuantificó la proteína teprotumumab mediante detección ELISA de la región Fc de IgG humana.

Tabla 29 – Diseño del estudio de dosificación de teprotumumab

Grupo	N	Tratamiento	Dosificación Intravenosa	Puntos de tiempo del Suero
1	2	Tepezza (teprotumumab)	20 mg/kg a 10 mL/min	Día 0 a las 0.5 hr y 8 hr, Día 3, 4, 5, 6, 7, 9
2	2	Tepezza (teprotumumab)	50 mg/kg a 10 mL/min	

El teprotumumab en suero fue máximo inmediatamente después de la inyección y disminuyó de una manera dependiente del tiempo consistente con una inyección IV (Figuras 16A-16B). Las concentraciones séricas máximas fueron consistentes con la cinética sérica de teprotumumab NHP previamente disponible con valores de $C_{máx}$ observados (esperados) de 516 (529) µg/mL para la dosis de 20 mg/kg y 1328 (1310) µg/mL para la dosis de 50 mg/kg (Revisión de BLA de Farmacología/Toxicología de Tepezza).

En la necropsia (día 9), los músculos y el tejido adiposo se aislaron individualmente y se midieron las concentraciones de teprotumumab en cada músculo (oblicuo inferior y recto, oblicuo superior y recto, y recto lateral y medial) y en diferentes zonas adiposas (peribulbar, retrobulbar, orbital). Las concentraciones de teprotumumab a través de los músculos en cada grupo de dosis fueron

similares a pesar de su ubicación y las concentraciones adiposas en ambos grupos de dosis fueron similares, excepto para el tejido adiposo orbital a 50 mg/kg (Figura 17A-17B). Las concentraciones musculares y adiposas promedio en la cohorte de dosis de 20 mg/kg fueron 12.54 y 8.55 µg/mg de proteína, respectivamente, y en la cohorte de dosis de 50 mg/kg fueron 30.16 y 12.64 µg/mg de proteína, respectivamente (Figuras 18A-18B). Las concentraciones de teprotumumab aumentaron con la dosis (~2X) en los músculos, pero no fueron dependientes de la dosis en el tejido adiposo. Las concentraciones musculares de teprotumumab fueron más altas que las del tejido adiposo para la cohorte de dosis de 50 mg/kg; las concentraciones promedio fueron comparables entre los tejidos a la dosis más baja. El porcentaje promedio de teprotumumab en músculo a suero (µg/mL en el día 9 [necropsia]) fue de ~16% (12.54/82 o 30.16/174.6); el porcentaje promedio de teprotumumab en tejido adiposo a suero (µg/mL en el día 9) fue de ~9% (8.55/82 o 12.64/174.6) a los niveles de dosis de 20 y 50 mg/kg.

En este estudio, se replicó el perfil farmacocinético previamente observado de teprotumumab en NHP administrados con una dosis IV, individual. Además, el estudio proporcionó información sobre las concentraciones de teprotumumab en el músculo orbital y el tejido adiposo después de una dosis IV, que se comparó con los niveles producidos por la

administración peribulbar de AAV9.smCBA.teprotumumab en el estudio NHP de 5 semanas y el hallazgo del intervalo de dosis (DRF) de NHP de 3 meses.

Expresión de AAV9.smCBA.teprotumumab en NHP

Se realizó un estudio de 35 días en monos cynomolgus para evaluar la exposición tisular sistémica y dirigida a teprotumumab de AAV9.smCBA.teprotumumab administrado peribulbar. El teprotumumab no se une al IGF1R de roedores o minicerdos, pero se une al IGF1R de humanos y monos cynomolgus con una potencia similar (Tepezza Pharmacology/Toxicology BLA Review), por lo tanto, este estudio permite la exploración de AAV9.smCBA.teprotumumab PK en presencia de IGF1R. Para cada dosis, 3 NHP recibieron inyecciones peribulbares bilaterales de AAV9.smCBA.teprotumumab en un volumen de 150 µL y se monitorearon durante 35 días (**Tabla 30**). Debido a la inmunogenicidad conocida de teprotumumab, se anticipó que el punto de tiempo de 35 días sería lo suficientemente largo como para detectar el inicio de la formulación de anticuerpos antifármaco (ADA, por sus siglas en inglés), pero antes de que los altos niveles sistémicos afectaran la detección de la proteína en los tejidos. Se recolectaron músculo extraocular y adiposo, junto con tejidos oculares y sistémicos, para análisis de expresión y biodistribución (ADN, ARN y proteína). Se recolectó suero para el análisis de los niveles

de proteína del producto transgénico y la inmunogenicidad (IgG neutralizante y de unión anti-AAV y anticuerpos de unión antitransgénica).

Tabla 30 - Dosificación de AAV9.smCBA.teprotumumab en NHP

Grupo	Artículo de Prueba	Dosis	Volumen de Dosis	N (Masculino)
1	AAV9.SMCBA.TEPROTUMUMAB	1E12 vg/ojo	150 µL/ojo	3
2	AAV9.SMCBA.TEPROTUMUMAB	4.65E12 vg/ojo	150 µL/ojo	3

El suero del grupo de dosis baja fue negativo para teprotumumab para todos los animales en todos los puntos temporales excepto para un animal en un punto temporal (Día 21, Figuras 19A-19B). Hubo una alta variabilidad en el teprotumumab sérico para la dosis alta de AAV9.smCBA.teprotumumab, pero las concentraciones séricas nunca excedieron 1 µg/mL, que fue más de 2 logs más baja que los niveles de Tepezza IV. Generalmente, una vez que un animal tenía teprotumumab detectable en el suero, las concentraciones en los puntos de tiempo posteriores no eran cuantificables. Esto es consistente con los informes de que los NHP desarrollan ADA tan pronto como 21 días después de la

exposición (Revisión de BLA de Farmacología/Toxicología de Tepezza).

A los 35 días posteriores a la inyección peribulbar de AAV9.smCBA.teprotumumab, las concentraciones de teprotumumab en el grupo de dosis baja fueron indetectables en la mayoría de las muestras adiposas y en la mitad de las muestras musculares. Esto fue consistente con las concentraciones séricas indetectables en este grupo a lo largo de las evaluaciones en la vida. Sin embargo, se detectó teprotumumab en el músculo orbital y el tejido adiposo del grupo de dosis alta de AAV9.smCBA.teprotumumab, en línea con la detección sérica en vida en estos animales. La expresión de teprotumumab fue más alta en los músculos oblicuo inferior y recto consistente con una inyección en la región peribulbar temporal inferior (Figura 20A). Estos dos músculos, el recto inferior y el oblicuo, son los más afectados por la patología de la enfermedad de los músculos (Akbari, M.R., *et al*., J Curr Ophthalmol 32(1): 1-13 (2020)). De los músculos con teprotumumab detectable, la concentración promedio fue de 5.39 y 10.89 µg/mL para la dosis baja y alta (Figura 21A). Los niveles de teprotumumab adiposo fueron ~3 veces más bajos que las concentraciones del músculo, pero se observaron concentraciones promedio similares en las regiones peribulbar y retrobulbar (Figura 20B). Esto respalda el hecho de que la inyección peribulbar no restringe el acceso al tejido adiposo

retrobulbar. Para tejido adiposo con teprotumumab detectable, la concentración promedio fue de 3.39 µg/mL para el grupo de dosis alta (Figura 21B).

En este estudio, el AAV9.smCBA.teprotumumab peribulbar inidividual, produjo niveles detectables de teprotumumab en el músculo orbital y el tejido adiposo tan pronto como 5 semanas después de la inyección. El escape sérico de proteína fue relativamente bajo, lo que respalda la localización del AAV9.smCBA.teprotumumab en el espacio orbital. Las concentraciones de teprotumumab en el músculo orbital y adiposo del grupo de dosis alta de AAV9.smCBA.teprotumumab fueron comparables a las del grupo de 20 mg/kg de Tepezza IV, a pesar de solo 5 semanas de expresión y la posible presencia de ADA, lo que respalda el concepto de que AAV9.smCBA.teprotumumab administrado localmente puede expresar teprotumumab a concentraciones clínicamente relevantes en los tejidos orbitales. Además, estos resultados respaldaron el uso de la inmunosupresión y la dosis máxima factible, para evaluar de manera aguda la expresión máxima de AAV9.smCBA.teprotumumab en el estudio DRF. Por ejemplo, tres días antes de la dosificación de AAV9.smCBA.teprotumumab, los participantes elegibles comenzarán a recibir prednisona profiláctica 0.5 mg/kg QD. Los participantes permanecerán con prednisona 0.5 mg/kg QD durante 1 mes, seguido de un tratamiento con esteroides de 2

meses de duración.

Efecto de Teprotumumab Vectorizado en Xenoinjertos de Carcinoma de Colon Humano IGF1R+ (Colo205) en Ratones Desnudos Hembra

Como se describe en la Revisión de la FDA de la Solicitud de Licencia de Farmacología/Toxicología de Tepezza (2019), el perfil farmacodinámico de teprotumumab, que se desarrolló originalmente como agente anticancerígeno, se caracterizó en parte por un estudio en ratones con xenoinjertos de carcinoma de pulmón humano en el que teprotumumab (6 mg/kg, intraperitoneal (IP)) demostró una reducción en la expresión tumoral de IGF1R, a pesar de la falta de eficacia en la reducción del crecimiento tumoral. De manera similar, para evaluar la actividad farmacodinámica *in vivo* de AAV9.smCBA.teprotumumab, según lo medido por la expresión de IGF1R, se realizó un estudio sin BPL de 31 días en ratones con xenoinjerto con Tepezza convencional y AAV9.smCBA.teprotumumab en los que se midió la regulación negativa de la expresión tumoral de IGF1R (ver la Publicación PCT Núm. WO2023133561A1, que se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad). Si bien este modelo no pretende representar la enfermedad clínica o la vía de administración, se seleccionaron células tumorales de adenocarcinoma colorrectal humano (Colo205), ya que son sensibles a la internalización y degradación de IGF1R mediada

por anticuerpos *in vitro* y se han usado previamente como un modelo de xenoinjerto para evaluar la actividad antitumoral de los anticuerpos anti-IGF1R (Calzone, F., J., *et al*., PLoS One 8(2): e55135 (2013)).

Los ratones desnudos atímicos hembra que tenían tumores Colo205 establecidos se trataron con IP Tepezza o teprotumumab o mCherry vectorizado intratumoral (IT) (**Tabla 31**). El volumen del tumor se midió quincenalmente, y las concentraciones de teprotumumab del tumor, los niveles de proteína IGF1R y las copias del genoma del vector se evaluaron en las necropsias intermedia y final. Los niveles séricos de teprotumumab también se monitorearon a lo largo del estudio. La tolerabilidad del tratamiento se evaluó mediante mediciones del peso corporal y la observación de los signos clínicos de los efectos secundarios relacionados con el tratamiento.

Tabla 31 – Diseño del Estudio para Tumores Colo205

Grupo(s)	N	Tratamiento	Dosis	Vía	Programa
1	14	Controles	-	-	-
2	14	Vehículo	-	IT	Dosis individual
3	14	AAV9.SMCBA.TEPROTUMUMAB	s7.75E11 vg	IT	Dosis individual
4	14	AAV9.CAG.TEPROTUMUMAB (AAV9.CAG.teprotumumab)	s7.75E11 vg	IT	Dosis individual

5	8	AAV9.smCBA.mCherry	s7.75E11 vg	IT	Dosis individual
6	8	AAV9.CAG.mCherry	6.5E11 vg	IT	Dosis individual
7	14	Teprotumumab (Tepezza)	6 mg/kg	IP	Semanalmente

IP = intraperitoneal; IT = intratumoral

Las descripciones completas de las construcciones de vectores AAV9.smCBA.teprotumumab y AAV9.CAG.teprotumumab se proporcionan en la Tabla 27

Todos los grupos tratados con teprotumumab (ya sea IP Tepezza o IT AAV9.smCBA.teprotumumab y AAV9.CAG.teprotumumab) tuvieron tolerabilidad aceptable y niveles detectables de teprotumumab y genoma del vector en tumores (Figura 22A, Figura 23). Los niveles séricos de teprotumumab fueron detectables dentro de los 14 días posteriores a la dosificación de teprotumumab vectorizado por IT, a concentraciones similares a Tepezza IV, con un máximo de cerca de 100 µg/mL (Figura 22B). Esto indicó que se pueden administrar grandes cantidades de teprotumumab a través del tratamiento con AAV, hasta niveles equivalentes de anticuerpos administrados de forma exógena.

Se evaluó adicionalmente la capacidad del teprotumumab vectorizado con AAV para reducir la expresión de la proteína IGF1R en tumores de ratones desnudos con xenoinjerto. Los niveles totales de proteína IGF1R fueron

significativamente más bajos en tumores de animales a los que se administró teprotumumab de cualquier fuente que en tumores no tratados (Figura 24).

En resumen, la actividad farmacodinámica de teprotumumab, administrado como IP Tepezza o una dosis IT de AAV9.smCBA.teprotumumab o AAV9.CAG.teprotumumab, se evaluó en xenoinjertos de Colo205. Se detectaron altas concentraciones de teprotumumab en tumores de animales tratados con AAV y se correlacionaron con una reducción significativa en la expresión de IGF1R en comparación con ningún tratamiento. En todos los puntos de tiempo posteriores a la dosis, los niveles de IGF1R fueron similares entre los grupos tratados con Tepezza y AAV9.smCBA.teprotumumab, lo que respalda una actividad farmacodinámica similar entre los 2 productos.

Modelos Animales Existentes para TAO.

El teprotumumab no se ha evaluado en un modelo preclínico de oftalmopatía asociada a la tiroides (TAO). Hasta la fecha, no se conocen modelos NHP de GD que involucren directamente a IGF1R.

Debido a que el mecanismo subyacente a la interacción de murino y NHP IGF1R con TSHR y su contribución a la patología orbital no se entiende en ningún modelo TAO, los modelos TAO existentes no son adecuados para demostrar la eficacia de un anticuerpo anti-IGF1R vectorizado en TED. Por el contrario, dado que IGF1R es un contribuyente conocido a

la patogénesis de TED, la farmacología de AAV9.smCBA.teprotumumab se caracterizará a través de una serie de evaluaciones *ex vivo*, *in vitro* e *in vivo* que miden los efectos sobre IGF1R.

Valoración Farmacodinámica *In Vitro*.

Para evaluar la capacidad de AAV9.smCBA.teprotumumab para unirse a IGF1R en un sistema *in vitro*, se cosechó teprotumumab de células HEK293T transducidas con AAV9.smCBA.teprotumumab. Se analizaron la cantidad de proteína (inmunoensayo Gyrolab IgG), la identidad (análisis de proteínas de inmunotransferencia capilar), la unión a IGF1R (MSD ELISA) y la señalización de insulina y fosfotirosina (MSD ELISA), con teprotumumab recombinante (Tepezza) como control positivo.

El análisis de proteínas que comparó Tepezza y teprotumumab producido por AAV9.smCBA.teprotumumab mostró una detección similar de cadenas pesadas y ligeras de IgG1 humana para ambos productos en condiciones reductoras y no reductoras. Además, el teprotumumab producido por AAV9.smCBA.teprotumumab y Tepezza también tuvo cantidades comparables de IgG unida a IGF1R, lo que demuestra una funcionalidad de unión a diana similar por molécula de IgG (Figura 25).

La funcionalidad de AAV9.smCBA.teprotumumab y teprotumumab recombinante (Tepezza) se evaluó adicionalmente

midiendo la reducción en IGF1R total e IGF1R fosforilado después de la adición de cada producto a células HT-1080 estimuladas con IGF1. Las células HT-1080 se seleccionaron debido a su alta expresión del receptor IGF1R y la activación robusta de IGF1R tras la estimulación de IGF1, lo que proporcionó el mejor intervalo dinámico para medir las diferencias entre los inhibidores de esta vía de señalización. Los valores de IC50 resultantes para reducir los niveles totales de IGF1R e inhibir la fosforilación de tirosina de IGF1R celular no fueron significativamente diferentes ($P > 0.05$) entre Tepezza y AAV9.smCBA.teprotumumab (Figuras 26A-26B), lo que indica que los productos tienen una actividad inhibidora y de unión a IGF1R similar.

Evaluación Farmacodinámica *In Vivo*.

Debido a que la realización de estudios de eficacia en roedores está excluida tanto por la ausencia de un modelo farmacológicamente relevante como por la falta de unión de teprotumumab a IGF1R de roedor (Tepezza Pharmacology/Toxicology BLA Review), se seleccionó un modelo murino de xenoinjerto de tumor IGF1R+ humano para investigar el perfil farmacodinámico *in vivo* de AAV9.smCBA.teprotumumab. Si bien este modelo no pretendía representar la enfermedad clínica o la vía de administración, históricamente se ha usado para demostrar la eficacia de los anticuerpos anti-IGF1R, en particular la reducción de los niveles de IGF1R, y

es similar a los modelos de xenoinjerto que respaldaron la evaluación clínica inicial de teprotumumab como agente anticancerígeno (Calzone 2013). En el estudio Colo205 *in vitro* anterior, los niveles tumorales de IGF1R se redujeron después de una dosis intratumoral individual de AAV9.smCBA.teprotumumab, lo que demuestra la capacidad de teprotumumab vectorizado para regular negativamente la expresión de IGF1R (Figura 24).

Evaluación Farmacodinámica *Ex Vivo*.

Para caracterizar la actividad biológica y la farmacodinámica de AAV9.smCBA.teprotumumab versus Tepezza sobre la expresión de IGF1R en el estado enfermo, se evaluó IGF1R en fibrocitos humanos primarios derivados de sangre periférica de pacientes con GD. Se investigaron los fibrocitos, ya que se ha informado en pacientes con GD que sobreexpresan IGF1R en circulación, se localizan en la órbita y están relacionados con la conducción de una reacción inflamatoria (Smith, T.J., *et al.*, Endocrinol frontal (Lausana) 7: 167 (2016)). Consistent with literature observations (Chen, H., *et al.*, J Clin Endocrinol Metab 99(9): E1635-1640 (2014)), la frecuencia de positividad de IGF1R en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) fue significativamente mayor en muestras de pacientes con EG que en las de donantes sanos. Además, el nivel basal de IGF1R en la superficie de los fibrocitos GD también fue

significativamente mayor que el encontrado en individuos sanos; estos altos niveles se mantuvieron en cultivo. El tratamiento con teprotumumab derivado del vector de AAV dio como resultado una disminución sustancial en la expresión de la proteína IGF1R basal en fibrocitos de pacientes con EG (Figura 27).

Aislamiento de Células Mononucleares. Las muestras de sangre entera, diluidas 1:1 en solución salina amortiguada con fosfato (PBS) 1X, de donantes sanos y pacientes con enfermedad de Graves (GD) se separaron en capas al adicionar una solución de Ficoll-Paque y centrifugando a 400 x g durante 40 minutos. La capa superior de plasma se removió y se recolectaron las células mononucleares. Luego, las células del donante/paciente se lavaron con 3 veces su volumen en PBS, 3 veces por separado. Si era necesario, se adicionó una solución de lisis de RBC 1X a las células durante 10-15 minutos. Las células se centrifugaron durante 12 minutos a 300 – 400 x g. Una vez que las células se lavaron y se removieron los glóbulos rojos, las células se resuspendieron en medio de cultivo de fibrocitos (DMEM con 10% de suero bovino fetal (FBS, por sus siglas en inglés), 1% de penicilina/estreptomicina) y se colocaron en placas a una concentración de $1x10^7$ células/mL en placas de 6 pocillos. Las células se cultivaron en una incubadora humidificada a 37°C con ~5% de dióxido de carbono. Siete días después de

separar inicialmente las células mononucleares, las células no adherentes se remueven y las células adherentes (fibrocitos) se lavan 3 veces en PBS antes de refrescar cada uno de los pocillos con medio de cultivo de fibrocitos. La confluencia para las células se monitoreó a lo largo del tiempo para determinar cuándo las células podrían dividirse para una mayor expansión y/o designarse para experimentos.

Cultivo de Fibroblastos Oculares Humanos (*In Vivo*). Se recolectaron muestras de fibroblastos oculares de recolecciones quirúrgicas de tejido de descompresión ocular. Se recolectaron muestras de fibroblastos de pacientes identificados en uno de los siguientes grupos: Donante de TED que recibió Tepezza >90 días, donante de TED que no había recibido Tepezza o donante normal (control). En resumen, el tejido retroocular del paciente se picó y se digirió con 2 mg/mL de colagenasa tipo I (Sigma C1638) en medio de cultivo de tejidos DMEM en una incubadora a 37°C durante 4-12 horas. Luego, la colagenasa se neutralizó mediante la adición de un volumen 2X de medio de cultivo de fibroblastos (DMEM con 10% de FBS, 1% de Pen/estrep). Las células liberadas de colagenasa se centrifugaron a 250 x g durante 10 minutos para obtener un sedimento celular y se colocaron en placas de cultivo tisular de 6 pocillos a ~10000 células/cm^2. Los fibroblastos orbitales primarios se cultivaron en una incubadora humidificada a 37°C con 5% de CO_2.

Grupos de Tratamiento. Los fibroblastos se sembraron a una densidad de $1.4x10^4$ células/mL en una placa de fondo transparente negra de 96 pocillos (Cellvis, Cat# P96-1.5P) con medio de cultivo de fibrocitos. Una vez que las células alcanzaron ~70% de confluencia, se adicionó medio de fibrocitos sin suero 1% de FBS a cada pocillo durante la noche (<24 horas). Se removió el medio y se administró el tratamiento a cada pocillo de acuerdo con sus grupos designados: Hormona estimulante de la tiroides (TSH; 5 mU/mL), factor de crecimiento de insulina-1 (IGF-1; 100 ng/mL), teprotumumab derivado de vector (derivado de células transducidas con AAV9.smCBA.teprotumumab) (vTepro; 100 – 1000 ng/mL) vTepro +TSH, vTepro +IGF-1, teprotumumab recombinante (100 – 1000 ng/mL), Tepezza+TSH, Tepezza+IGF-1 y Control (sin tratamiento). Se administró tepezza y/o teprotumumab derivado de vector a las células primero a 100 µL/pocillo durante aproximadamente 30 – 60 minutos antes de adicionar IGF-1 o TSH (50 µL/pocillo) a sus pocillos respectivos. El tratamiento se administró por triplicado. Después de 24 horas, se recolectó el sobrenadante para la evaluación de citocinas inflamatorias, y las células se lavaron 3 veces, 5 minutos cada una con PBS. Las células adherentes se usaron para la inmunotinción como se detalla a continuación.

Inmunotinción. Se adicionó 4% de PFA (100 µL/pocillo) durante 10 minutos a temperatura ambiente (TA) para fijar las

células. Se adicionó PBS a la placa 3 veces, 5 minutos cada una antes de adicionar 100 µL de 0.1% de Triton-X (para permeabilización celular). Las células se incubaron con la solución de Triton-X a temperatura ambiente (TA) durante 10 minutos. Luego, la solución se removió de los fibrocitos con 3 lavados de PBS, 5 minutos cada uno.

Se adicionó el anticuerpo primario IGF-1R (R&D Systems; Cat# AF-305-NA) y se incubó durante la noche a 4°C durante 1 hora a TA (o durante la noche a 4°C). Los pocillos se lavaron 3 veces con PBS durante 5 minutos cada uno. Luego se adicionó anticuerpo secundario, anti-IgG de cabra Texas Red (Invitrogen; Cat# PA1-28662) durante 1 hora a TA. La solución de anticuerpo se decantó y los pocillos se lavaron con PBS. La solución madre de DAPI (Invitrogen; Cat# D1306) se diluyó a 500 nM y se adicionó 200 µL a cada pocillo durante 5 minutos a TA. Las muestras se enjuagaron con PBS 3 veces, durante 5 minutos cada una. Se adicionaron 150 µL de PBS a los pocillos antes de que la placa se transfiriera al refrigerador a 4 °C hasta que estuviera lista para el análisis de datos usando el Pico ImageXpress.

Análisis de Datos con Pico ImageXpress. La placa de 96 pocillos se transfirió al Pico ImageXpress (Molecular Devices, San Jose CA) donde se usaron los ajustes de configuración para un análisis de puntuación celular para identificar 2 subpoblaciones en función del marcador

fluorescente: Texas Red para las células de interés con expresión de IGF-1R y DAPI para los núcleos. A partir de este análisis, se calcularon los valores para la intensidad integrada de células positivas, la intensidad total de células positivas y el porcentaje de células positivas (%).

Para caracterizar la actividad biológica y la farmacodinámica de teprotumumab derivado del vector de AAV9.smCBA.teprotumumab (vTepro) frente a Tepezza en la expresión de IGF1R en el estado enfermo, se evaluó IGF1R en fibroblastos humanos primarios derivados de la descompresión orbital o la cirugía de BLEROPLASTIA de pacientes con TED o donantes sanos. El tratamiento con teprotumumab derivado del vector de AAV dio como resultado una disminución sustancial dependiente de la dosis en la expresión de la proteína IGF1R basal en fibroblastos orbitales de pacientes con TED (Tepezza sin tratamiento previo o tratados con Tepezza > 90 días antes), así como fibroblastos orbitales humanos de pacientes sanos (Figuras 28A-28C).

Para caracterizar la actividad biológica y la farmacodinámica de vTepro en combinación con IGF-1 (100 ng/ml) frente a Tepezza en la expresión de IGF1R en el estado enfermo, se evaluó IGF1R en fibroblastos humanos primarios derivados de descompresión orbital o cirugía de bleroplastia de pacientes TED o donantes sanos. 500 ng/mL de vTepro con condiciones de IGF-1 (100 ng/mL) exhibieron el porcentaje de

reducción más alto para la mayoría de los donantes; sin embargo, a vTepro 1000 ng/mL+ IGF-1 (100 ng/mL), la reducción se perdió para todos los donantes. Estos datos indican que las concentraciones óptimas de vTepro en este estudio fueron inferiores a 1000 ng/mL, incluyendo aproximadamente 500 ng/mL (Figuras 29A-29C).

Expresión del Intervalo de Dosis de la Expresión de AAV9.smCBA.teprotumumab Administrado por vía Peribulbar en primates no humanos (NHP)

AAV9.smCBA.teprotumumab, un bloqueador de IGF1R vectorizado, fue diseñado para ser una opción de tratamiento duradera, efectiva y única para pacientes con TED al abordar la enfermedad directamente en el sitio de la patología. AAV9.smCBA.teprotumumab se administró mediante una inyección peribulbar bilateral de una sola vez, en múltiples dosis, para lograr la expresión local del producto transgénico directamente en el espacio orbital en NHP, una especie en la que IGF1R se une funcionalmente a teprotumumab. La evaluación preliminar de la administración periocular en minicerdos y NHP mostró una expresión adecuada en el tejido muscular y adiposo, genomas de vector bajos fuera del espacio orbital, bajo escape de suero y proteína mínima en tejidos no orbitales.

Se realizó un estudio de 12 semanas en monos cynomolgus para evaluar la exposición sistémica y dirigida a

teprotumumab tisular de AAV9.smCBA.teprotumumab administrado peribulbar. El teprotumumab no se une al IGF1R de roedores o minicerdos, pero se une al IGF1R de humanos y monos cynomolgus con una potencia similar (Tepezza Pharmacology/Toxicology BLA Review), por lo que este estudio permitió la evaluación de la farmacocinética de AAV9.smCBA.teprotumumab en presencia de IGF1R. Para cada dosis, 3 NHP recibieron una inyección peribulbar unilateral (OS – el ojo izquierdo) o bilateral (OU) de AAV9.smCBA.teprotumumab a dosis 4.5E11, 1.5E12 y 4.35E12 (vg/ojo) en un volumen de 150 µL y se monitorearon durante 12 semanas con una necropsia provisional a las 4 semanas (**Tabla 32**). Se eligió una necropsia provisional de 4 semanas en función de la tasa de expresión transgénica, que fue consistente entre minicerdo y en NHP y se alinea con la cinética publicada para la terapia génica intramuscular de AAV. Se consideró probable que el punto de tiempo de 12 semanas fuera lo suficientemente largo para la formulación de anticuerpos antifármaco (ADA) y, por lo tanto, se usó un régimen de inmunosupresión de micofenolato mofetilo (MMF) y rapamicina para limitar la formación de anticuerpos antitransgénicos. Se recolectaron músculo extraocular y adiposo, junto con tejidos oculares y sistémicos, para análisis de expresión y biodistribución (ADN, ARN y proteína). El suero, el humor acuoso, el músculo extraocular

y el tejido adiposo se recolectaron para el análisis de la expresión de proteínas transgénicas. Se recolectó suero para el análisis de inmunogenicidad (IgG neutralizante y de unión anti-AAV y anticuerpos de unión antitransgénica). Las evaluaciones clínicas incluyeron OCT, ERG, respuesta auditiva cerebral (abr), potencial evocado visual (VEP), Pio y exámenes oftálmicos. Se evaluaron los paneles de hematología y química clínica a lo largo del estudio, con histología en tejidos orbitales y sistémicos completados en la necropsia provisional y terminal.

Tabla 32 – Intervalo de Dosis de NHP que encuentra el diseño del estudio de biodistribución

Estudio Grupos	**Artículo de Prueba**	**Dosis vg/ojo**	**Ojo(s)**	**Volumen (µL)**	**Número de Animales Muestreados**	
					Necropsia 4 Semanas	**Necropsia 12 Semanas**
1	Vehículo	0	OU	150	1M+1F	1M+1F
2	AAV9.smCBA.teprotumumab	4.5E11	OU	150	1M+2F	2M+1F
3	AAV9.smCBA.teprotumumab	1.5E12	OU	150	2M+1F	1M+2F
4	AAV9.smCBA.teprotumumab	4.35E12	OU	150	1M+2F	2M+1F
5	AAV9.smCBA.teprotumumab	4.35E12	OS	150	1M/2F	na

OU= bilateral; OS=unilateral (ojo izquierdo) vg= genomas de vector; na = no aplicable

La descripción completa de AAV9.smCBA.teprotumumab se proporciona en la Tabla 27

No hubo efectos relacionados con AAV9.smCBA.teprotumumab en las observaciones clínicas, el peso corporal, los exámenes oculares, los niveles de IOP, las evaluaciones ERG u OCT. No hubo cambios en las mediciones de VEP, lo que indica que AAV9.smCBA no alteró la capacidad de los músculos orbitales para mover el ojo. No hubo cambios en las evaluaciones de química clínica o hematología, lo que indica que AAV9.smCBA.teprotumumab no provocó hiperglucemia ni afectó las células sanguíneas sistémicas, incluidas las PBMC. En todos los puntos de tiempo evaluados, los valores umbral para abr no cambiaron más de 40 decibelios en múltiples frecuencias (Figuras 30A y 30B). Por lo tanto, no hubo un impacto obvio en la audición por AAV9.smCBA.teprotumumab.

El teprotumumab en suero aumentó en una materia dependiente del tiempo y la dosis, pero no excedió 6 µg/mL en ningún animal (Figura 30C). Se detectaron anticuerpos antiteprotumumab esporádicos a lo largo del estudio de una manera no dependiente de la dosis (datos no mostrados). Estos niveles de título bajos que no se esperaba que impidieran la medición de la proteína teprotumumab. El teprotumumab en humor acuoso no fue cuantificable en ningún grupo de dosis en ningún punto de tiempo probado. El adiposo orbital y el músculo tuvieron teprotumumab cuantificable que aumentó de 4.5E11 a 4.35E12 vg/ojo, pero no fue dependiente de la dosis

para la cohorte 1.5E12 vg/ojo (Figuras 30D-30G). Los animales que recibieron una dosis peribulbar unilateral de AAV9.smCBA.teprotumumab no tenían proteína cuantificable en la órbita contralateral (datos no mostrados). Para cada animal, las concentraciones relativas a través de los músculos orbitales fueron consistentes, mostrando solo el recto superior una tendencia a proteínas más bajas que un músculo recto lateral promedio (Figura 30H). Los niveles de genoma y ARNm del vector fueron consistentes en todos los niveles de dosis y puntos de tiempo para ambos músculos (Figuras 30I-30J) pero fueron más dependientes de la dosis en el tejido adiposo (Figuras 30K-30L). La detección sistémica de genomas de vectores y ARNm se limitó al hígado, una diana habitual para la transducción de AAV9, y al bazo, donde se secuestra el vector que se elimina a través del sistema linfático (datos no mostrados). En general, la administración peribulbar de AAV9.smCBA.teprotumumab fue bien tolerada y no se observó ninguno de los principales efectos secundarios informados para TEPEZZA sistémico. Las dosis altas (4.35E12 vg/ojo) de AAV9.smCBA.teprotumumab conducen a concentraciones medias de músculo orbital >40 µg/mL de tejido y teprotumumab sistémico por debajo de 6 µg/mL de suero.

Ejemplo 3 – Estudio GLP (Profético)

Se llevará a cabo un estudio GLP de 3 meses, con una necropsia provisional de 1 mes, para evaluar la toxicidad y

la biodistribución de AAV9.smCBA.teprotumumab después de la administración peribulbar a monos cynomolgus (*Macaca fascicularis*). Los monos cynomolgus (N=36; ~18 machos, ~18 hembras) recibirán inyecciones individuales bilaterales de vehículo o AAV9.smCBA.teprotumumab en el espacio peribulbar a un volumen de 150 µL (**Tabla 33**). Se eligieron monos cynomolgus porque, a diferencia de otras especies de animales grandes no roedores, el teprotumumab puede unirse a su IGF1R, lo que los convierte en una especie farmacológicamente relevante para evaluar la toxicidad. La vía de administración en este estudio, la inyección peribulbar, es la vía de administración clínica prevista. Las observaciones en vida incluirán observaciones clínicas, evaluaciones oftalmológicas y auditivas, patología clínica, excreción e inmunogenicidad, y evaluaciones de necropsia terminal que incluyen histología y biodistribución (genoma del vector, ARNm y proteína).

Tabla 33 – Diseño del estudio de toxicología GLP

Estudio Grupos	**Artículo de Prueba**	**Tratamiento**	**Volumen de Dosificación (µL)**	**Número de Animales Muestreados**	
				Día 28 Necropsia	**Día 90 Necropsia**
1	Control Saludable	Vehículo	150	2M+1F	1M+2F
2	AAV9.smCBA.teprotumumab	Dosis baja	150	2M+1F	1M+2F
3	AAV9.smCBA.teprotumumab	Dosis media	150	1M+2F	2M+1F
4	AAV9.smCBA.teprotumumab	Dosis alta	150	2M+1F	1M+2F

Se planea un volumen de inyección peribulbar de 150 µL para el estudio de toxicología GLP. El volumen de la cavidad orbital del mono cynomolgus (10 mL) es aproximadamente 0.38X el tamaño de los humanos (26.5 mL) (Tandon, R., *et al.*, J Oral Maxillofac Surg 78(5): 782-796 (2020)). El volumen de inyección peribulbar clínico de 400 µL para AAV9.smCBA.teprotumumab se eligió para la dosificación humana, este es un volumen 10 veces menor que el usado en la administración de anestesia o esteroides (3-4 mL) (Bordaberry, M., *et al.*, Acta Ophthalmol 87(1): 58-64 (2009)) (Ripart, J., *et al.*, Anesthesiology 94(1): 56-62 (2001)). Escalado para el tamaño de la cavidad orbital de humanos a NHP, un volumen de 400 µL X 0.38 equivale a un volumen de 150 µL/ojo para NHP.

Se eligió una duración de estudio de 3 meses para proporcionar una evaluación adecuada de seguridad y tolerabilidad para respaldar un primer estudio clínico en humanos porque en este momento, se espera que la expresión transgénica se haya estancado y normalmente se observan toxicidades clave asociadas con la exposición a teprotumumab y las terapias génicas de AAV. Debido a la alta inmunogenicidad en NHP de teprotumumab, los estudios de toxicología de GLP usarán un régimen de inmunosupresión de micofenolato mofetilo (MMF) y rapamicina para limitar la formación de anticuerpos antitransgénicos que interferirían

con la detección de la expresión transgénica.

Ejemplo 4 – Eficacia de Anticuerpos anti-IL6 o anti-IL6R vectorizados en un Modelo de Ratón Transgénico hIL-6/hIL-6R (Profético)

Un modelo de ratón transgénico con un gen de IL-6 e IL-6R humanizado en un fondo C57BL/6 (Biocytogen, 120557) se administra por vía intramuscular con una construcción de anticuerpo AAV-anti-IL-6 o AAV-anti-IL-6R (por ejemplo, que incluye un promotor ubicuo (por ejemplo, smCBA), una secuencia de cadena pesada, una secuencia F2A, una secuencia de cadena ligera y una secuencia poliA en una cápside de AAV9) descrita en la presente. Un conjunto de ratones de control se inyectan por vía intramuscular con solución salina amortiguada con fosfato.

A las 4 semanas después de la administración de AAV, se induce artritis de acuerdo con informes anteriores (Brand et. al. Nature Protocols, 2007, 2(5), 1269-1275). En resumen, el colágeno tipo II mezclado con adyuvante CFA se inyecta por vía intradérmica en la base de la cola de cada ratón. Se recolectan los pesos corporales y la puntuación de inflamación de las articulaciones del ratón durante 8 semanas adicionales. Se extrae suero a intervalos de 2 semanas para controlar los niveles de proteína sérica del anticuerpo anti-IL-6 o anti-IL-6R usando un ensayo de IgG humana MSD (Mesoscale Discovery #K150JLD-1). A las 21 semanas después de

la administración de AAV, se recoletan las articulaciones del ratón y se analizan mediante inmunohistoquímica para determinar la gravedad de la artritis y la inflamación. La reducción de la gravedad de la artritis y la inflamación son evidencia de la inhibición de la vía de la IL-6.

Ejemplo 5 – Eficacia de Anticuerpos anti-FcRn vectorizados en un Ratón hFcRn Transgénico (Profético)

Se ha descrito previamente un modelo de ratón transgénico con un gen FcRn humanizado para monitorear el efecto de las terapias anti-FcRn sobre la depuración de IgG humana en ratón (Smith et. Al. MABS. 2018, 10(7), 1111-1130., DOI: 10.1080/19420862.2018.1505464). A ratones B-NDG hFcRn disponibles comercialmente (Biocytogen, 111922) se les administra por vía intramuscular una construcción de anticuerpo AAV-anti-FcRn (por ejemplo, que incluye un promotor ubicuo (por ejemplo, smCBA), una secuencia de cadena pesada, una secuencia F2A, una secuencia de cadena ligera y una secuencia poliA en una cápside de AAV9) descrita en la presente. Un conjunto de ratones de control se inyecta por vía intramuscular con solución salina amortiguada con fosfato. Después de 8 semanas para permitir la expresión de la construcción anti-FcRn, a cada ratón se le inyecta una dosis de 500 mg/kg de una solución al 10% p/v de IgG humana policlonal (726820; Gamunex®-C, Grifols, US). Blood is drawn at 0, 24, 48, 72, 144 y 192h. La descomposición de la IgG

humana en suero se mide usando un ensayo MSD de IgG humana (Mesoscale Discovery #K150JLD-1). Los niveles de proteína anti-FcRn se evalúan mediante espectrometría de masas en tándem de cromatografía líquida (LC-MS/MS) después de la digestión tríptica. El aumento de la descomposición de IgG humana en el suero de ratones tratados es evidencia de expresión funcional de anticuerpo FcRn humanizado.

Ejemplo 6 - Escisión Después de la Administración Peribulbar de AAV.

Se realizó un estudio para evaluar si la expresión transgénica de un vector de AAV administrado por inyección peribulbar podría reducirse mediante la escisión del tejido adiposo peribulbar. Dos grupos, cada uno con 4 minicerdos de Gottingen, recibieron inyecciones subcutáneas peribulbar de 1E12 vg AAV9.smCBA.teprotumumab en 250 uL/ojo en ambos ojos el Día 1. Los animales tenían al menos 6 semanas de edad y al menos 8 kg en el momento de la dosificación. Las inyecciones se realizaron de la siguiente manera: La conjuntiva se agarró suavemente con fórceps de colibrí y el ojo se giró por vía nasal inferior, y se insertó una aguja de calibre 25 de 1.25 pulgadas (3.175 cm) en la conjuntiva temporal inferior o a través del canto medial, para administrar 250 uL de solución de AAV en el espacio peribulbar durante una infusión de 10 segundos. La aguja se mantuvo en su lugar durante 30 segundos antes de la retracción. Después de la inyección, se aplicó

una presión suave en el lugar de la inyección con un aplicador con punta de algodón a medida que la aguja se retiraba lentamente.

El díana 15 después del tratamiento con AAV, los animales del grupo 2 se sometieron a una cirugía bilateral de resección adiposa peribulbar. En resumen, se realizó una cantotomía lateral. Se colocó una sutura nupcial en el músculo recto lateral y se giró el ojo medialmente. Se hizo una incisión a través de la conjuntiva infero-temporal usando las tijeras de tenotomía de Steven y se usó una disección roma para separar la cápsula de Tenon inferior al músculo recto lateral. Se realizó una disección roma adicional para exponer la grasa orbital inferotemporal al globo. Usando fórceps de colibrí de 0.3 mm, se agarró la grasa retroorbital, se exteriorizó y se extirpó con tijeras de tenotomía. La conjuntiva temporal y el limbo lateral se cerraron con suturas simples de vicryl 5-0 interrumpidas. Los animales que se sometieron a cirugía se dejaron recuperar hasta el día 29, cuando se sacrificaron todos los animales.

Después del tratamiento con AAV, se recolectaron muestras de suero en los días 8, 15 del estudio (antes de la cirugía de resección para el grupo 2) y el día 29. Los exámenes oculares se realizaron al inicio del estudio antes del tratamiento con AAV y en los días 8, 15 (antes de la cirugía para el grupo 2), 22 y 29. Se evaluaron las muestras

de suero para determinar la expresión de teprotumumab, así como la IgG antiteprotumumab.

Resultados:

La administración peribulbar de AAV fue bien tolerada en todos los animales del estudio. La cirugía bilateral de resección adiposa peribulbar también es bien tolerada. Sin embargo, el impacto de la cirugía de escisión adiposa en la concentración sérica de teprotumumab no fue concluyente debido al desarrollo de anticuerpos antifármaco (ADA) en el día 22 en 5 de los 8 animales del estudio, lo que resultó en la rápida eliminación de teprotumumab, así como en el rápido crecimiento de los animales del estudio. No se espera que estos factores de confusión sean relevantes en pacientes adultos con enfermedad ocular tiroidea humana.

Ejemplo 7 – Cálculo de la concentración de teprotumumab mínimamente efectiva y la concentración de teprotumumab efectiva en el músculo.

Las concentraciones mínimamente efectivas de teprotumumab y la concentración efectiva de teprotumumab se calcularon de la siguiente manera: Xin, Clin Pharmacokinet 60(8): 1029-1040 (2021) informaron un análisis farmacocinético poblacional de pacientes con TED tratados con Tepezza. Las exposiciones mínimas en estado estacionario predichas por el modelo (Cmin,ss) de teprotumumab usadas en el análisis de exposición-respuesta por Xin *et al.*, se

refinaron aún más para dar cuenta de la distribución tisular del 5-10% de la circulación en tejido adiposo y músculo de un anticuerpo (Shah Clin Pharmacokinet 60(8): 1029-1040 (2013), Wang Clin Pharmacol Ther 84(5): 548-558 (2008)). El criterio de valoración de eficacia clave de la respuesta a la proptosis, definida como una reducción en la proptosis de ≥2 mm en el ojo del estudio en la semana 24 (Lazor Tepezza Clinical Pharmacology BLA Review. 2019, Xin 2021), junto con la velocidad de respuesta en los ensayos clínicos de Tepezza se usó para establecer la concentración mínimamente efectiva de teprotumumab en el músculo y el tejido adiposo como 4.5 µg/mL y la concentración efectiva de teprotumumab en el músculo y el tejido adiposo como 18 µg/mL.