

**MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE**

**A. Información de carácter general:**

**1. Detalles de la notificación**

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B-ES-24-27
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	25 de noviembre de 2024
d) Título del proyecto:	Estudio abierto en dos partes de REGV131-LNP1265, un tratamiento de inserción de genes del factor IX de la coagulación basado en CRISPR/Cas9 en participantes con hemofilia B
e) Período propuesto para la liberación:	Desde 01/04/2025 hasta el 27/07/2029

**2. Notificador**

Nombre de la institución o empresa:	Regeneron Pharmaceuticals DAC
-------------------------------------	-------------------------------

**3. Definición del OMG**

a) Indíquese si el OMG es:	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)	

b) Identidad del OMG (género y especie)

Familia: *Parvoviridae*

Género: *Dependovirus*

Especie: Virus adenoasociado (AAV)

Cepa: AAV8

REGV131 REGV131 es un virus adenoasociado del serotipo 8 (AAV8) recombinante deficiente para la replicación que contiene una cápside de AAV8 de tipo silvestre y se empaqueta con un molde de ADN que comprende un casete génico de *F9* sin promotor con repeticiones terminales en sentido opuesto (RTI) derivadas de AAV2 y un aceptor de empalme de *Alb*, en lo sucesivo denominado “molde de ADN de *F9*”.

REGV131 es uno de los dos componentes del medicamento de terapia génica (MTG) en investigación llamado REGV131-LNP1265; el otro componente del MTG es LNP1265, que porta ARNm y ARNg de Cas9 sintetizados químicamente, y, por lo tanto, se encuentra fuera del marco del OGM. Ninguno de los componentes de REGV131-LNP1265 presenta beneficios terapéuticos en la enfermedad cuando se administra en monoterapia, ya que para crear una inserción génica estable en el locus objetivo es necesaria la presencia de los dos componentes.

- c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:

Se espera que la estabilidad genética de REGV131 sea similar a la de otros vectores AAV recombinantes incompetentes para la replicación (incluso en presencia de un virus auxiliar) que carecen de los genes necesarios para la replicación (genes rep y cap) y se utilizan para introducir moldes de ADN transgénico. Este hecho limita su capacidad para mutar y evolucionar. Además, REGV131 se genera mediante la transfección transitoria de células 293-F utilizando plásmidos secuenciados caracterizados completamente. Al ser un ADN monocatenario, es menos propenso a eventos de recombinación en comparación con los virus ADN o ARN bicatenarios, lo que reduce las posibilidades de generar variantes genéticas no deseadas. Por otra parte, REGV131 tiene una capacidad de empaquetado limitada (alrededor de 4,7 kilobases), lo que restringe el tamaño del material genético que puede llevar y limita aún más la posibilidad de inestabilidad genética.

La integridad genómica del vector también se analiza para determinar la conformidad con la secuencia de referencia génica como parte de la fabricación del medicamento.

En los pacientes tratados con REGV131-LNP1265, el molde de ADN de F9 administrado por REGV131 está diseñado para integrarse de forma estable en el genoma de las células huésped de las células hepáticas en el locus ALB dirigido por la maquinaria de CRISPR/Cas9 administrada por LNP1265, que posteriormente pasará a las células hija del hígado más allá de la división celular mitótica. Se espera que esta integración estable sea permanente en la persona tratada, lo que generaría niveles duraderos y sostenidos de la proteína funcional del FIX en el plasma. La integración dirigida solo puede producirse en presencia de LNP1265 y, sin este componente, el molde de ADN de F9 administrado por REGV131 no puede integrarse de forma estable en los genomas de las células hepáticas.

Además de la inserción dirigida, el molde de ADN del componente REGV131 también puede persistir de forma extracromosómica en el núcleo como episomas. Sin embargo, dado que el molde de ADN incluye un promotor, estos episomas no son capaces de impulsar la expresión génica.

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país: <i>FR, IT</i>	

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: DE - Número de la notificación: B/DE/24/PEIP01250	

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: Canadá, EE. UU., Reino Unido - Número de la notificación: Canadá ([NSN] 21975), EE. UU. (notificaciones del centro), Reino Unido (notificaciones del centro)	

7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

REGV131 se administrara a los participantes en centros clínicos en condiciones controladas, por profesionales sanitarios formados, como infusiones intravenosas (i.v.) consecutivas de REGV131, seguidas de LNP1265.

REGV131 es incompetente para la replicación y no patógeno, no contiene un promotor ni un codón de inicio y se basa en la administración conjunta con LNP1265 para la expresión de proteínas, tras la inserción en el sitio específico en las células diana.

En el paciente tratado, la integración del molde de ADN de *F9* está concebida para ser específica del sitio, dirigirse al locus *ALB* e impulsarse por la actividad de Cas9 guiada por el ARNg que proporciona el componente LNP. La falta de un promotor en el molde de ADN de *F9* es una característica intencionada del inserto para reducir el posible riesgo de oncogénesis asociada con un evento de inserción aleatoria, ya que será menos probable que el molde de ADN sin promotor influya en la expresión génica local en la proximidad de un sitio de integración aleatoria en el improbable caso de una inserción aleatoria. Por lo tanto, el riesgo de oncogénesis por inserción y el riesgo ambiental por la liberación de REGV131-LNP1265 se considera insignificante.

En caso de exposición mínima no intencionada a REGV131 de personas que no participan en el estudio (p. ej., tras la exposición accidental de profesionales sanitarios o a través de la excreción de pacientes tratados), es muy improbable que el número de partículas transferidas cause infecciones. Si la exposición a REGV131 se produjese en una persona que no participa en el estudio, cabría esperar que cualquier material genético administrado por el AAV, es decir, el molde de ADN de *F9* administrado, permanecerá en forma de episoma inerte se degradara de forma similar a otros AAV con deficiencia para la replicación. Por otra parte, a diferencia de otros AAV deficientes para la replicación, REGV131 no puede impulsar la expresión génica debido a la falta de promotor. Además es muy improbable que los dos componentes, REGV131 y LNP1265, entren en la misma célula en una persona no prevista, ya que se fabrican como productos farmacológicos independientes y se administran a los participantes de los ensayos en entornos controlados como infusiones únicas secuenciales.

Por lo tanto, el promotor considera que no cabe esperar que la administración de REGV131 a los participantes de ensayos clínicos produzca ningún efecto adverso en el medio ambiente ni en personas no objetivo a través de una exposición directa o indirecta.

**B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG**

**1. Identificación del organismo receptor o parental**

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/>

(especifique el phylum y la clase)

Otros, (especifíquense):

**2. Nombre**

i) Orden y taxón superior (animales): virus ADNmc
ii) Género: Dependovirus
iii) Especie: Parvoviridae
iv) Subespecie: virus adenoasociado
v) Cepa: serotipo 8, modificado para producir REGV131
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): N/P
vii) Nombre vulgar: N/P

**3. Distribución geográfica del organismo**

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:

Sí                       No                       No se sabe

b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:

i) Sí

En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?

Sí  No

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí  No

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radicales de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especificuense): Los humanos y los primates no humanos son especies hospedadoras.

b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: No procede

5. a) Técnicas de detección

Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR)

5. b) Técnicas de identificación

qPCR

6. Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí  No

En caso afirmativo, especifíquese:

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí  No  No se sabe

En caso afirmativo

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:

humanos

animales

plantas

otros

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE. N/P

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: Después de entrar en el núcleo de la célula huésped, el AAV de tipo silvestre (TS) puede seguir una de las dos vías distintas e intercambiables de su ciclo de vida: la fase lítica o la fase latente. Para entrar en fase lítica, una célula infectada latente debe estar sobreinfectada con un virus auxiliar, incluido el rescate del genoma del ADN del provirus, seguido de la replicación y el empaquetado del genoma vírico. Por último, tras la lisis celular inducida por un virus auxiliar, se liberan los viriones recién ensamblados.

b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:  
N/P: Puesto que REGV131 es no replicante, no puede causar infección estable en el organismo receptor previsto.

c) Modo de reproducción Sexual  Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción:

Los AAV de origen natural solo pueden replicarse en presencia de un virus auxiliar, como el adenovirus o el virus del herpes simple. La presencia de un virus auxiliar favorece la expresión del genoma del AAV para crear partículas virales intactas que contienen ADN empaquetado que puede transmitirse.

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo

- i) endosporas
- ii) quistes
- iii) esclerocios
- iv) esporas asexuales(hongos)
- v) esporas sexuales (hongos)
- vi) huevos
- vii) pupas
- viii) larvas

otras (especifíquense) El ADN administrado por AAV puede persistir en la células huésped como concatémicos episomales o integrarse en el ADN de la célula huésped. Sin embargo, REGV131 no es capaz de replicarse (se han retirado los genes *rep* y *cap*) y no contiene un promotor, por lo que no puede causar infección estable en el organismo receptor previsto.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

El AAV pertenece a la familia *Parvoviridae*. En el medio ambiente, *Parvoviridae* es muy resistente a los efectos químicos y físicos, y puede persistir en el medio ambiente durante un periodo de tiempo prolongado. Es estable en presencia de disolventes lipídicos, en el rango del pH de 3 a 9 y a 56 °C durante 60 minutos. Es infeccioso durante semanas en condiciones secas. El tratamiento con sustancias como la lejía al 10 % destruirá tanto el vector clínico como los AAV de origen natural en un plazo de 20 minutos.

10. a) Vías de diseminación

Los AAV de origen pueden transmitirse a través del contacto con excreciones o secreciones, p. ej., por la inhalación de gotas aerosolizadas, por contacto con mucosas, por ingestión y posiblemente por transmisión sexual.

10. b) Factores que afectan a la diseminación



Los AAV de origen natural solo pueden replicarse en células que están coinfectadas con un virus auxiliar, p. ej., un adenovirus, y que expresan los genes rep y cap de AAV.

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

No se han producido notificaciones de OGM anteriores para REGV131. No se ha notificado modificaciones similares del organismo receptor en el estado miembro en cuestión.

### C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

- |                                      |                                     |
|--------------------------------------|-------------------------------------|
| i) Inserción de material genético    | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) Eliminación de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| iii) Sustitución de una base         | <input type="checkbox"/>            |
| iv) Fusión celular                   | <input type="checkbox"/>            |
| v) Otro (especifíquese)              |                                     |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado de la modificación genética es que los genes rep y cap de origen natural, que impulsan la replicación vírica, se eliminan completamente del genoma y se sustituyen por un molde de ADN que contienen el gen terapéutico F9 sin promotor enmarcado por las RTI del AAV2.

Por lo tanto, REGV131 es incapaz de replicarse y, dada la falta de promotor, la expresión de las proteínas dependerá de una correcta integración en el sitio específico del genoma de las células dianas.

Tras la administración sistémica de REGV131 (y la posterior administración de LNP1265), el molde de ADN de F9 se administra a los hepatocitos y se inserta en el genoma de una manera secuencial específica y dirigida en un locus predeterminado en el gen ALB. La expresión está impulsada por el promotor del gen ALB endógeno de los hepatocitos transducidos. La inserción producirá la expresión de FIXh humano maduro de tipo silvestre en el plasma de los pacientes tratados. Este tratamiento de inserción génica dirigida está diseñado para restaurar la expresión normal o casi normal de FIX en pacientes con hemofilia B grave y moderadamente grave con actividad funcional del FIX  $\leq 2$  %.

3. a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí

No

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

3. b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí

No

En caso negativo, pase a la pregunta 5

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector

plásmido

bacteriófago

virus

cósmido

Elemento de transposición

Otros (especifiquense):

Identidad del vector: Plásmido del modelo de ADN (pINT3330). Plásmido que alberga el genoma del vector, que incluye las repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV2 y las secuencias del modelo del gen F9.

b) Gama de organismos huéspedes del vector: El plásmido se ha propagado en bacterias y se ha seleccionado en la resistencia a los antibióticos.

c) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable

Sí

No

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifiquense)

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: Kanamicina. Cabe destacar que el gen de resistencia solo está presente en el vector del molde, que se utiliza durante la fabricación. No está presente en el REGV131 del rAAV del OMG final.

d) Fragmentos constituyentes del vector El genoma REGV131 del rAAV del OMG final comprende el molde de ADN de *F9* que codifica la proteína del factor IX de la coagulación humano, con repeticiones terminales invertidas (RTI) derivadas de AAV2 y un aceptor de empalme de *Alb*.

e) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección
- vi) otros, (especifíquense)

La línea celular empaquetadora se cotransfecta transitoriamente con tres plásmidos independientes.

- 1.) un plásmido portador del genoma del vector, que incluye RTI de AAV2 y el molde de ADN de *F9* humano,
- 2.) un plásmido portador de genes AAV necesarios para la replicación y encapsidación del genoma del vector y
- 3.) un plásmido auxiliar que consiste en genes que apoyan la replicación de rAAV durante el proceso de fabricación de las partículas de rAAV de REGV131.

5. Si las respuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

- i) transformación
- ii) microinyección
- iii) macroencapsulación
- iv) macroinyección
- v) otros, (especifíquense)

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

El fragmento de inserción consta de un molde de ADN de *F9* que contiene el gen que codifica la proteína del factor IX de la coagulación humano de longitud completa, sin un promotor y con repeticiones terminales invertidas (RTI) derivadas de AAV2-y un aceptor de empalme de *Alb*.

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:

Gen que codifica el factor IX de la coagulación humano de longitud completa:

*Homo sapiens*

Aceptor de empalme de la albumina: *Mus musculus*

Secuencias de la señal de poliadenilación: *Bos taurus* y SV40 (virus simio 40)

Secuencias de repetición terminal invertida (RTI): AAV2 (virus adenoasociado 2)

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG

Gen que codifica la secuencia de codificación génica del factor IX de la coagulación humano de longitud completa: para la expresión de la proteína del FIX para el tratamiento de pacientes con hemofilia B.

Aceptor de empalme de ratón: se necesita para un proceso de maduración de ARNm correcto durante la expresión transgénica.

Señal de poliadenilación: finaliza la transcripción del gen F9 de la coagulación.

RTI de AAV: secuencias necesarias para permitir la replicación y el empaquetado del casete de transgenes en la cápside durante la fabricación, así como para la síntesis de ADN de segunda cadena en células transducidas.

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros especifíquense):

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?

Sí

No

En caso afirmativo , especifíquese:

**D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)**

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Familia (plantas): N/P
iii) Género: <i>Homo</i>
iv) Especie: <i>Homo sapiens</i>
v) Subespecie: N/P
vi) Cepa: N/P
vii) Cultivar/línea de reproducción: N/P
viii) Patovar: N/P
ix) Nombre vulgar: humano

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		

a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí	<input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
		No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese:	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------	-------------------------------------

El AAV de tipo silvestre puede integrarse de forma específica de sitio en el cromosoma 19 (un sitio denominado AAVS1) mediante un mecanismo dependiente de rep. Aproximadamente el 0,1 % de los genomas infecciosos de AAV de tipo silvestre se integran en AAVS1. En ausencia de genes *rep* y *cap* necesarios para la replicación, como es el caso de los vectores AAV recombinantes (rAAV), la integración cromosómica fuera del objetivo es infrecuente. Se prevé que la integración dirigida intencionada se produzca solo en presencia de LNP1265 en el locus *ALB* objetivo. Dada la falta de promotor, no se espera que ninguna integración fuera del objetivo impulse la expresión de proteínas.

## E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

Especifíquese
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/>                      No <input type="checkbox"/>                      No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: El genoma de REGV131 se ha modificado significativamente en comparación con el virus parental para que sea incompetente para la replicación, incluso en presencia de un virus auxiliar. Los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> de <i>AAV</i> se han sustituido por un molde de ADN que contiene el gen del <i>factor 9</i> que codifica la proteína del factor IX de la coagulación humano.</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/>                      No <input type="checkbox"/>                      No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: El genoma de REGV131 carece de secuencias de genes <i>rep</i> y <i>cap</i> y, por tanto, es deficiente para la replicación incluso en presencia de un virus auxiliar. Por lo tanto, aunque tiene la capacidad de transducir células, la falta de capacidad de replicación restringirá considerablemente la diseminación.</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/>                      No <input checked="" type="checkbox"/>                      No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

<p>La estabilidad genética se describe en la Sección A.3.3. Por lo general, REGV131 se considera genéticamente estable.</p> <p>Tras la administración de REGV131 en centro hospitalario y después de la administración de LNP1265, se espera que la correcta inserción del molde de ADN en el locus objetivo genere un alto grado de estabilidad genética, según se desprende de los datos preclínicos farmacológicos en modelos de ratón y mono, que mostraron una expresión estable y duradera de la proteína del factor IX de la coagulación humano a lo largo del tiempo. Los moldes de ADN no integrados desaparecerán al ser metabolizados o excretados, o se circularizarán por unión de los extremos formando un episoma extracromosómico. En este último caso, dada la falta de promotor, no se producirá ninguna expresión de proteínas, y se espera que el ADN circularizado se diluya por la división celular a lo largo del tiempo.</p>
--

3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		

a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?	<input type="checkbox"/>
animales	<input type="checkbox"/>
plantas	<input type="checkbox"/>
otros	<input type="checkbox"/>

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A

No procede. Ni el AAV salvaje ni el REGV131 son patógenos para el ser humano.

#### 4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: REGV131 se puede detectar mediante una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa con cebadores específicos de secuencia.
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: REGV131 se puede detectar mediante una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa con cebadores específicos de secuencia.

### F. Información sobre la liberación

#### 1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)

REGV131 se utilizará en un ensayo clínico para tratar a participantes varones con diagnóstico confirmado de hemofilia B de grave a moderadamente grave, inscritos en el primer ensayo clínico en el ser humano “Estudio abierto en dos partes de REGV131-LNP1265, un tratamiento de inserción de genes del factor IX de la coagulación basado en CRISPR/Cas9 en participantes con hemofilia B (BEYOND-9); código del estudio: R131L1265-HEMB-2318”. Dado que el fármaco del estudio se le administra directamente al paciente en un entorno controlado, no se esperan riesgos ambientales potenciales.
--



2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <p>La liberación de REGV131 se limitará a centros especializados en los que se inscriba a participantes en el ensayo clínico. Estos centros son los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hospital Universitario Vall d’Hebron, Passeig de la Vall d’Hebron, 119-129, Barcelona</li><li>• Hospital Universitario La Paz, Paseo de la Castellana, 261, Madrid</li><li>• Universitat de Valencia - Hospital Universitari i Politecnic La Fe de Valencia (Hospital La Fe Bulevar Sur), Avinguda de Fernando Abril Martorell, 106, Valencia</li><li>• Hospital Universitario Miguel Servet, Paseo Isabel La Católica, 1, Zaragoza</li><li>• Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, Avenida del Pasaje, La Coruña</li><li>• Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Carretera Madrid-Cartagena, El Palmar</li></ul>
<p>b) Área del lugar (m<sup>2</sup>):</p> <p>i) lugar real de la liberación (m<sup>2</sup>):</p> <p>ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>):</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>No procede. REGV131 solo se administrará de forma controlada a los participantes aptos inscritos en el estudio R131L1265-HEMB-2318 en centros hospitalarios especializados como infusión intravenosa única. Las partículas excretadas no serían infecciosas. Por consiguiente, ni los biotipos reconocidos internacionalmente ni las zonas protegidas se verán afectados.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>No procede. REGV131 solo se administrara a los participantes inscritos en estudios clínicos en centros especializados, por lo que no se prevén interacciones con la flora y la fauna, los cultivos, el ganado y las especies migratorias.</p>

#### 4. Método y amplitud de la liberación

##### a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

El estudio R131L1265-HEMB-2318 es un estudio clínico de dos partes (la parte 1 y la parte 2), tal como se describe en la sección F.1.

Las dosis de REGV131 que se administraran en el estudio se basan en el peso.

En la parte 1, se inscribirá a un máximo de 30 participantes. Se prevé que la dosis máxima potencial de REGV131 no exceda la dosis clínica aprobada de otras terapias génicas para la hemofilia.

El OGM se administra a seres humanos inscritos en un ensayo clínico en un entorno hospitalario controlado y no está prevista su liberación. Puede esperarse que se produzca una liberación en forma de excreción transitoria en los pacientes tratados (CE, Buenas Prácticas en la evaluación de aspectos relacionados con los OGM en el contexto de ensayos clínicos con vectores clínicos derivados de AAV) y se evaluara como parte del ensayo.

En la parte 2A, se inscribirán y tratarán aproximadamente 10 participantes adicionales de  $\geq 18$  años con la dosis recomendada para la expansión (DRE) establecida en la parte 1, que se basara en una revisión acumulativa de todos los datos de seguridad, tolerabilidad, farmacología y eficacia disponibles. En función de los datos acumulados, se puede ampliar para incluir aproximadamente a 30 participantes más de  $\geq 18$  años. En el futuro, se podrán añadir nuevas cohortes (parte 2B y parte 2C) para tratar a participantes de  $< 18$  años.

##### b. Duración de la operación:

Los participantes aptos en el estudio R131L1265-HEMB-2318 recibirán tratamiento una vez con una única dosis i.v. de REGV131 durante un periodo de 2 horas, seguida de una única dosis i.v. de LNP1265 durante un periodo de 4 horas.

El tratamiento solo se administrará después de que el participante se haya sometido a los periodos de preselección, selección y preinclusión pertinentes definidos en el protocolo del estudio. Tras la administración de REGV131-LNP1265, se hará un seguimiento de todos los participantes durante dos años. Además, se espera que todos los participantes se inscriban en un estudio de extensión a largo plazo independiente para proporcionar un seguimiento total de 15 años.

##### c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

- Durante la fabricación, cada lote de REGV131 se someterá a pruebas de control de calidad para garantizar que no haya virus competentes para la replicación u otras impurezas (“aclaramiento vírico”), y solo aquellos lotes que cumplan las especificaciones predefinidas y los atributos de calidad se entregarán a los centros.

- REGV131 se fabricará en un entorno controlado y se administrará solo en centros hospitalarios especializados que cuenten con procedimientos de bioseguridad adecuados. Todo el personal recibirá formación sobre la manipulación segura de organismos modificados genéticamente, incluida la ropa protectora necesaria y la eliminación de residuos, y aplicará las mejores prácticas de bioseguridad para minimizar cualquier exposición accidental al producto. Los procedimientos también

se incluirán en la documentación del ensayo clínico, p. ej., manuales y protocolo sobre cómo administrar REGV131 de forma segura y eliminar los residuos para destruir cualquier medicamento sobrante.

- Se ha observado excreción en el semen de pacientes varones con hemofilia B tratados con una terapia génica episómica basada en AAV5 que porta un transgén de ADN impulsado por un promotor, en un estudio clínico en fase III, durante un tiempo de 45, 8 semanas. Por consiguiente, como precaución, los participantes sexualmente activos deben estar dispuestos a utilizar un método anticonceptivo de barrera fiable durante el periodo de tratamiento con el fármaco del estudio y hasta 12 meses después de la administración o, en su caso, al menos hasta que 3 muestras de semen consecutivas den negativo para secuencias vectoriales analizadas mediante qPCR.

- Hasta la fecha, no se ha identificado en las publicaciones especializadas ningún efecto adverso debido a la exposición a material vírico en fluidos excretados o secretados en personas no objetivo con ningún serotipo de AAV.

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

No procede. La administración de REGV131 solo se realizará en un entorno hospitalario controlado.

6. 6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

No procede. REGV131 se está administrando en el contexto de un primer ensayo clínico en el ser humano.

**G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental**

1. Nombre del organismo diana (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Familia (plantas): N/P
iii) Género: <i>Homo</i>
iv) Especie: <i>Homo sapiens</i>
v) Subespecies: N/P
vi) Cepa: N/P
vii) Cultivar/Línea de reproducción: N/P
viii) Patovar: N/P
ix) Nombre vulgar: humano

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

Tras la administración sistémica de REGV131 (y la posterior administración de LNP1265), el molde de ADN de F9 administrado al hepatocito se inserta en las roturas de doble cadena generadas por la endonucleasa Cas9 guiada por ARNg en el primer intrón del locus *ALB*. Se prevé que la correcta inserción en el locus *ALB* produzca el efecto terapéutico deseado de una expresión estable y duradera de la proteína del FIX de la coagulación humano funcionalmente activa, que se espera que restablezca los niveles normales o casi normales de la actividad del FIX y, de este modo, reduzca la tasa anual de hemorragias.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

No se esperan otras interacciones con el medio ambiente.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese: REGV131 es incompetente para la replicación y carece de promotor, por lo que esa sección no procede.		

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

No se espera que haya ningún tipo de ecosistema en el que REGV131 pueda extenderse desde el lugar de la liberación y llegue a establecerse, ya que es incompetente para la replicación y, por lo tanto, cualquier partícula vírica excretada no podría replicarse ni persistir en el ambiente.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

i) Orden y taxón superior (animales): N/P
ii) Familia (plantas): N/P
iii) Género: N/P
iv) Especie: N/P
v) Subespecie: N/P
vi) Cepa: N/P
vii) Cultivar/línea de reproducción: N/P
viii) Patovar N/P
ix) Nombre vulgar: N/P

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

REGV131 solo se administrará por vía intravenosa (antes de la administración de LNP1265) a los participantes inscritos en el estudio R131L1265-HEMB-2318 en un entorno hospitalario. Una vez administrado, REGV131 muestra un tropismo para las células hepáticas. Una vez captado por los hepatocitos, el molde de ADN de F9 se inserta en roturas de doble cadena generadas por la endonucleasa Cas9 guiada por ARNg que administra LNP1265, en el locus de *ALB*. Dado que REGV131 no contiene ninguna secuencia del promotor como parte del molde de ADN y es incompetente para la replicación, no se espera que las excreciones de vectores víricos que puedan producirse posteriormente en las secreciones, las excreciones o la sangre de los participantes tratados supongan un riesgo medioambiental para otros organismos. Además, es muy improbable que los dos componentes, REGV131 y LNP1265, entren en la misma célula en un receptor no previsto, ya que se fabrican como productos farmacológicos independientes y se administran a los participantes de los ensayos en entornos controlados como infusiones únicas secuenciales. Por otra parte, dado que la exposición al FIX humano se produce normalmente en humanos sanos y en pacientes con hemofilia B que reciben tratamiento sustitutivo con factores de coagulación exógenos, no se espera que la expresión del FIX esté asociada a ninguna propiedad dañina o patógena.

b) De otros organismos al OMG:

La probabilidad de que se dé una recombinación homóloga entre REGV131 y otros serotipos de AAV que generarían variantes viables de REGV131 es muy baja, teniendo en cuenta que los únicos elementos víricos en el genoma del vector son las dos secuencias de RTI cortas no codificantes (con 145 nucleótidos cada una) y la secuencia poliA de SV40.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

No se prevén efectos perjudiciales.

En caso de exposición no intencionada a REGV131 de receptores que no participan en el estudio clínico, dependiendo de la vía de transmisión, la exposición superficial no daría lugar a una expresión transgénica en células no hepáticas debido a que la cápside transduce preferentemente las células hepáticas. La exposición sistémica solo podría darse en caso de contacto accidental de REGV131 con membranas mucosas, formación de aerosoles o lesiones por pinchazos de aguja. Estas situaciones son muy poco probables, ya que REGV131 se administrará en centros de ensayos clínicos por profesionales sanitarios formados que utilizarán equipos de protección individual adecuados. Además, dado que la integración genómica dirigida a REGV131 se basa en la presencia de LNP1265 y dado que el molde de ADN de F9 de REGV131 no contiene ningún promotor, no se esperan efectos adversos con la exposición a REGV131.

8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

No se han realizado estos estudios. Los datos preclínicos no indican la necesidad de realizar dichos estudios.

9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)

No se espera que REGV131 afecte a los procesos biogeoquímicos.

## H. Información sobre el seguimiento

### 1. Métodos de seguimiento de los OMG

- Una vez se establezca la dosis recomendada para la expansión a través de las cohortes de escalada de dosis de la parte 1 del estudio R131L12, se hará un seguimiento de la excreción del vector clínico mediante la obtención de muestras de sangre, saliva, secreciones nasales, semen, orina y heces de los participantes tratados en la cohorte de confirmación de la dosis para analizar el ADN del vector por medio de una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), en puntos temporales que reflejen los valores máximos y la duración total esperada de la detectabilidad, basándose en los informes previos. El panel de matrices correspondiente en el que se recogerá ADN de los vectores a lo largo del tiempo en la parte 2 se basará en el análisis de los datos de la cohorte de confirmación de la dosis de la parte 1.
- Los posibles riesgos a largo plazo relacionados con el tratamiento se controlarán haciendo un seguimiento a largo plazo del paciente durante un máximo de 15 años.

### 2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Los riesgos que representan para los ecosistemas son insignificantes. Por lo tanto, no se propone un seguimiento específico más allá de la medición de los parámetros descritos en H.1.

### 3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

Las muestras se recogerán durante el desarrollo clínico para analizar la excreción de vectores mediante qPCR una vez que se establezca la dosis recomendada para la expansión, con la posibilidad de que la obtención de muestras pueda fundamentarse en los datos previos y la biodistribución de REGV131- LNP1265. En estudios clínicos previos con vectores incompetentes para la replicación utilizados para administrar un transgén terapéutico se ha caracterizado la excreción vírica en heces y saliva sin pruebas de patogenicidad.

No se considera necesario ningún plan para detectar la transferencia de material genético a otros organismos.

### 4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

Esta sección no procede. REGV131 se administrará de forma controlada a sujetos humanos en centros de tratamiento hospitalario especializados con personal formado adecuadamente. Por consiguiente, no se necesita hacer un seguimiento.

### 5. Duración del seguimiento

Seguimiento de la excreción de vectores víricos hasta al menos tres puntos de datos consecutivos que estén por debajo del límite de detección (LD) del análisis o si el participante no alcanza el LD pero muestra una tendencia decreciente continua, hasta que haya al menos tres puntos de datos consecutivos que demuestren estabilización.

### 6. Frecuencia del seguimiento

Se recogerán muestras de excreciones de vectores víricos en los intervalos definidos en el protocolo del estudio en puntos temporales que reflejen los valores máximos y la duración total prevista de la detectabilidad, basándose en los informes previos. Las secreciones de sangre, orina, saliva y nasales se medirán semanalmente hasta la semana 12, cada 2 semanas desde la semana 14 a la 26 y cada 3 meses hasta el final del estudio. Las heces y el semen se medirán cada 3 semanas hasta la semana 16 y posteriormente se bajará la frecuencia, primero se hará mensualmente y luego cada tres meses hasta el final del estudio.

## **I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos**

### **1. Tratamiento del lugar tras la liberación**

Las medidas de descontaminación/limpieza seguirán las políticas y los procedimientos vigentes específicos del centro. Se utilizará un desinfectante con actividad viricida documentada contra AAV, por ejemplo, material absorbente impregnado en 1000 ppm de solución de cloro (p. ej., hipocloruro sódico).

### **2. Tratamiento del OMG tras la liberación**

Hasta el final del estudio, en el momento del cierre del centro o después de la fecha de caducidad confirmada, los viales sin usar y parcialmente usados deben conservarse en las condiciones de almacenamiento indicadas en la etiqueta. Si el centro clínico tiene la capacidad de desechar REGV131 por incineración o de acuerdo con todos los requisitos locales vigentes en materia de bioseguridad y la legislación local vigente en materia de gestión de residuos, como residuos biopeligrosos, puede proceder a la destrucción (con la aprobación del promotor) y entregar un certificado de destrucción o documentación equivalente; de lo contrario, se le indicará que devuelva todo el material utilizado o no utilizado a un centro de destrucción designado que desechará REGV131 según los procedimientos correspondientes para residuos biopeligrosos que se consideren material residual potencialmente de riesgo biopeligroso y entregará un certificado de destrucción.

### **3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos**

- Viales vacíos que contienen REGV131: La cantidad de REGV131 administrada dependerá de la cohorte de escalada de dosis en la fase I de desarrollo clínico y también del peso corporal del paciente
- Materiales utilizados para la preparación y administración del producto del estudio, p. ej., bolsa de solución salina, equipo de administración i.v., jeringas, agujas
- Equipo de protección individual, p. ej., guantes o mascarillas.

### **3. (b) Tratamiento de residuos**

Los viales y los residuos sin usar y usados que contengan, o que hayan estado en contacto con REGV131 (residuos sólidos y líquidos) se desecharán de acuerdo con los requisitos locales en materia de bioseguridad y la legislación local vigente en materia de gestión de residuos de materiales biopeligrosos.



## **J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia**

### **1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista**

El PEI siempre va acompañado de un kit para derrames aprobado con las instrucciones correspondientes. Durante todo el procedimiento de administración, habrá disponible un kit para derrames, que el centro proporcionará según los procedimientos locales.

En el caso de que se produzca un derrame accidental de REGV131, se descontaminarán las superficies contaminadas con REGV131 de acuerdo con las políticas y procedimientos vigentes específicos del centro utilizando un desinfectante con eficacia validada contra AAV. Todo el material adsorbente contaminado se destruirá siguiendo los procedimientos locales en materia de bioseguridad, normalmente por incineración en el centro clínico.

### **2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas**

Véase la Sección J.1.

### **3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma**

REGV131 está indicado para administrarse en seres humanos únicamente en entornos hospitalarios controlados. Por lo tanto, esta pregunta no procede, ya que ni las plantas, los animales ni los suelos estarán expuestos a REGV131.

### **4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable**

No se esperan efectos no deseados en el medio ambiente, ya que REGV131 está indicado para administrarse a pacientes por separado dentro de un ensayo clínico en un entorno hospitalario controlado.

Todos los profesionales sanitarios y el personal del centro que participen en la administración de REGV131 recibirán formación sobre las normativas locales y los procedimientos del centro para el manejo de OGM. El protocolo del ensayo clínico contiene recomendaciones para la elaboración de informes de seguridad para los investigadores, y el manual del investigador contiene información relativa a los posibles riesgos con REGV131. Se hará un seguimiento de todos los participantes inscritos en el ensayo clínico después de la administración del fármaco del estudio durante un máximo de 15 años.