

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

Estado miembro de la notificación: España
a) Número de la notificación: B/ES/20/08
b) Fecha del acuse de recibo de la notificación: 06 de abril de 2020
d) Título del proyecto: Estudio de fase 3, multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo para evaluar la seguridad y la eficacia de PF-06939926 en el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne
e) Período propuesto para la liberación: Desde noviembre de 2020 hasta noviembre de 2021, dependiendo del momento de reclutamiento de pacientes

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa: Pfizer, Inc. 235 East 42nd Street, New York, NY 10017, EE.UU.

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"/>

<p style="text-align: center;">- otro animal <input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase</p> <p>Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)</p>
<p>b) Identidad del OMG (género y especie)</p> <p style="margin-left: 20px;">Género: Dependoparvovirus Especie: Vector viral adenoasociado recombinante derivado del serotipo AAV9 natural</p>
<p>c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:</p> <p style="margin-left: 20px;">El AAV es un virus ADN monocatenario con una gran estabilidad genética, según pone de manifiesto el elevado grado de conservación de la secuencia de los genes rep y cap de distintos serotipos y genovares del AAV. Las homologías de la secuencia suelen ser mayores del 90 % y mayores del 80 % para los genes rep y cap, respectivamente. Además, el AAV utiliza las ADN-polimerasas del huésped para la replicación vírica, que se caracterizan por una polimerización del ADN de alta fidelidad y una actividad adicional de exonucleasa de corrección de errores que da lugar a una tasa de error muy baja de replicación del ADN, en comparación, por ejemplo, con las ARN-polimerasas utilizadas por los virus ARN. En apoyo de la estabilidad genética está la observación de que los episomas de ADN proviral del AAV aislados de diferentes muestras de tejidos humanos poseen sistemáticamente las secuencias rep y cap canónicas esperadas del AAV2.</p> <p style="margin-left: 20px;">El análisis filogénico del virus híbrido AAV2/3 hace pensar que se ha producido recombinación homóloga entre los serotipos AAV2 y AAV3. Esto es algo que no se ha observado con otros serotipos, lo que respalda que únicamente en la circunstancia supuestamente rara de que una célula sea infectada de manera simultánea por dos serotipos diferentes de AAV y un virus auxiliar (infección triple) se darían las condiciones adecuadas para que se produjera tal recombinación.</p> <p style="margin-left: 20px;">Se espera que PF-06939926 sea muy estable desde el punto de vista genético. La producción del vector en el proceso de fabricación y la síntesis de la segunda cadena del genoma del vector dependen de la ADN polimerasa del huésped, lo que da lugar a una tasa de error muy baja en la replicación del ADN. El genoma del vector de PF-06939926 se analizará mediante qPCR específica antes de la liberación. También se secuenciarán lotes ejemplares para confirmar la ausencia de cambios.</p>

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: BE; DE; FR; GB; IT	

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

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

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: Estados Unidos - Número de la notificación: NIH Protocol 1704-160	

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

PF-06939926 es un vector recombinante sin capacidad de replicación derivado de virus adenoasociado que contiene una versión miniaturizada del gen de la distrofina humana (minidistrofina), que puede ser eficaz para el tratamiento de los pacientes con distrofia muscular de Duchenne.

No cabe esperar que la liberación de PF-06939926, tal como se describe en esta solicitud, tenga un impacto ambiental adverso, incluida la población de pacientes humanos, por las siguientes razones:

1. Ausencia de patogenicidad del virus parental y del OMG: A pesar de una seroprevalencia estimada de hasta el 80 % de algunos serotipos humanos frecuentes, no se han identificado efectos patógenos del AAV. Las modificaciones que han dado lugar a la generación del OMG no han aumentado la patogenicidad (véase el punto 6. más adelante).
2. OMG sin capacidad de replicación: PF-06939926 es un vector de AAV recombinante no patógeno que carece de todos los genes víricos del AAV y no puede replicarse sin funciones auxiliares específicas del AAV y sin la actividad de un virus auxiliar. La replicación de PF-06939926 solo podría tener lugar en el caso extraordinariamente improbable de que una célula huésped resultara infectada por un AAV natural y un virus auxiliar, como un adenovirus humano o el virus del herpes simple. Si se produjera replicación, los únicos productos esperados serían el AAV PF-06939926 y el AAV natural, ambos virus intrínsecamente no patógenos.
3. Riesgo mínimo de transmisión por diseminación del virus: PF-06939926 carece de capacidad de replicación y no cabe esperar que sobreviva, se multiplique o se disperse si se elimina intacto del paciente tratado. Los AAV utilizados en terapia génica se diseminan a través de líquidos corporales. Se ha demostrado sistemáticamente que los vectores se diseminan durante un período breve y luego se tornan indetectables en los líquidos corporales. Cabe esperar que la carga vírica diseminada en los líquidos corporales sea baja en comparación con la dosis necesaria para lograr una expresión génica detectable en los seres humanos. Los sujetos tratados en el estudio C3391003 tendrán entre 4 y aproximadamente 9 años cuando reciban PF-06939926. Por consiguiente, no son sexualmente maduros y

puede asumirse con seguridad que cuando alcancen la madurez sexual, todo rastro de vector habrá desaparecido ya del semen. La diseminación del vector se evaluará durante un máximo de 6 años o hasta que se obtengan en un sujeto dos lecturas negativas consecutivas (en el límite de detección del análisis o por debajo del mismo) para una matriz de muestras dada (saliva, sangre entera, orina).

La exposición mínima, como la exposición ambiental, de personas distintas de los participantes en el estudio, no sería una dosis suficiente para dar lugar a una expresión génica significativa en los seres humanos. Aparte de los posibles huéspedes humanos, no cabe esperar que la exposición a PF 06939926 afecte a organismos que no sean objeto de la investigación, ya sea de manera directa o indirecta. Así pues, el riesgo para los seres humanos y el medio ambiente asociados a la diseminación vírica de PF 06939926 es insignificante.

4. Riesgo mínimo de mutagénesis por inserción: Los datos de ratones, perros, PNH y seres humanos indican que la integración de los vectores de AAV en el genoma del huésped es un acontecimiento raro; la mayor parte del vector se asienta en episomas concatémicos. A diferencia de los vectores retrovíricos, que codifican proteínas víricas para crear roturas bicatenarias, cuando el AAV se integra lo hace en roturas cromosómicas preexistentes. Los resultados de la integración son delecciones en las RTI del AAV y duplicaciones de las secuencias del huésped. Dado el tropismo tisular del AAV9 y los resultados de los estudios preclínicos, el mayor potencial de integración se encuentra en los hepatocitos y los miocitos esqueléticos y cardíacos. En ningún ensayo clínico de AAV hasta la fecha se han descrito casos de mutagénesis por inserción.

5. Expresión del transgén específica de tejido: PF-06939926 muestra un fuerte tropismo por el hígado y los músculos esquelético y cardíaco tras la administración IV. La expresión del transgén de PF-06939926 es estimulada por un promotor específico del músculo. La transducción de células distintas de las musculares no debería dar lugar a la expresión del transgén.

6. Riesgo mínimo asociado al transgén: El vector vírico no contiene secuencias víricas excepto las RTI, que facilitan la expresión del transgén y no producen proteínas víricas, partículas ni replicación del ADN. En un estudio exhaustivo de toxicidad (dosis única en ratas) no se demostró ningún efecto tóxico de PF-06939926 con la dosis prevista. La proteína codificada por el transgén es una versión acortada de una proteína natural y, por tanto, es improbable que resulte tóxica para los seres humanos o para otros organismos. En el OMG no se han introducido genes de toxinas, posibles oncogenes, factores de crecimiento ni otros genes que podrían ser potencialmente perjudiciales. Con la administración de PF 06939926 a seres humanos, las únicas proteínas extrañas a las que se expondrá el sistema inmunitario serán las proteínas de la cápside vírica.

7. Riesgo mínimo asociado a respuestas inmunitarias en los pacientes: Los pacientes recibirán corticosteroides para reducir al mínimo la respuesta inmunitaria a las proteínas de la cápside vírica. Se vigilará estrechamente a los pacientes y sobre todo en las primeras semanas después del tratamiento, cuando el riesgo de respuesta inmunitaria es más alto.

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): ssDNA virus
ii) Género: Dependoparvovirus
iii) Especie: Virus adenoasociado
iv) Subespecie: N/P
v) Cepa: AAV9
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 <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

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

Micronesio

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 radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros, (especifíquense): En simbiosis con animales (huéspedes primates)

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

5. a) Técnicas de detección

El AAV puede detectarse mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa

(qPCR) con cebadores específicos del genoma viral.

5. b) Técnicas de identificación

El AAV puede identificarse mediante qPCR con cebadores específicos del genoma viral. También puede identificarse mediante secuenciación.

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

Información complementaria: El AAV natural no es patógeno y no se ha clasificado conforme a la Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. El AAV carece de efectos patógenos conocidos, a pesar de que la seroprevalencia estimada de algunos serotipos humanos frecuentes es del 80 % (European Parliament and of the Council 2000). En consecuencia, el AAV cumple la definición de agente biológico del grupo 1 según la Directiva 2000/54/CE (agente biológico que resulte poco probable que cause enfermedad en el hombre).

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.

No procede.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: El rAAV carece de capacidad de replicación, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus auxiliar

b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: El rAAV carece de capacidad de replicación, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus auxiliar.		
c) Modo de reproducción	Sexual: N/P	Asexual N/P
d) Factores que afectan a la reproducción: La presencia de un virus auxiliar, como un adenovirus o el virus del herpes simple, favorece la expresión génica del AAV, la replicación del genoma y la producción de partículas víricas. En ausencia de un virus auxiliar, el AAV natural carece de capacidad de replicación. Hay que señalar que el OMG final, PF-06939926, no tiene capacidad de replicación ni siquiera en presencia de un virus auxiliar debido a la eliminación de los genes víricos rep y cap.		

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo		
i)	endosporas	<input type="checkbox"/>
ii)	quistes	<input type="checkbox"/>
iii)	esclerocios	<input type="checkbox"/>
iv)	esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
v)	esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
vi)	huevos	<input type="checkbox"/>
vii)	pupas	<input type="checkbox"/>
viii)	larvas	<input type="checkbox"/>
ix)	otras (especifíquense) El AAV no forma estructuras de supervivencia	
b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia Los miembros de la familia de los parvovirus, como el AAV, son virus estables que pueden persistir en el ambiente durante períodos prolongados (del orden de varias semanas). Las partículas de AAV son resistentes a un intervalo amplio de pH (pH 3-9) y soportan temperaturas elevadas (55 °C durante una hora). El AAV no forma estructuras de supervivencia. Sin embargo, al igual que todos los virus, la replicación del AAV no puede ocurrir fuera de una célula hospedadora. El tratamiento con sustancias como hipoclorito de sodio al 10 % destruirá las partículas víricas en 20 minutos.		

10. a) Vías de diseminación

El AAV puede transmitirse por contacto directo o indirecto. El AAV puede

transmitirse por inhalación, ingestión y, posiblemente, transmisión sexual.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

La replicación del virus solo es posible en células huésped que hayan sido coinfectadas por un virus auxiliar (por ejemplo, adenovirus o virus del herpes simple). Hay que señalar que el OMG final, PF-06939926, no tiene capacidad de replicación ni siquiera en presencia de un virus auxiliar debido a la eliminación de los genes víricos rep y cap.

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 ha notificado liberación de PF-06939926 en España

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 objetivo previsto de la modificación genética era generar un vector de AAV recombinante carente de genes víricos, de modo que no tuviera capacidad de replicación y sirviera únicamente para introducir el transgén e incluir la secuencia que codifica la minidistrofina, con el fin de sustituir a la distrofina ausente y posibilitar así el tratamiento de los pacientes con distrofia muscular de Duchenne.

PF-06939926 contiene un gen que codifica una variante acortada, pero funcional, del gen de la distrofina humana. La expresión depende de un promotor específico del músculo esquelético y cardíaco. En los estudios de biodistribución de PF-06939926 en animales se observó que la transferencia génica era predominante en el músculo esquelético, el corazón y el tejido hepático.

Cabe esperar que la administración de PF-06939926 dé lugar a la expresión del transgén de la minidistrofina y mejore el estado de los sujetos del estudio.

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
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 <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
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	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector: Plásmido con genoma del vector (pAAV-OptiDys)	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Bacterias, células de mamífero	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input checked="" type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: Kanamicina	
e) Fragmentos constituyentes del vector El genoma del vector comprende un promotor sintético específico del músculo esquelético y del músculo cardíaco, un transgén que codifica los dominios funcionales esenciales del gen de la distrofina humana y una señal de poliadenilación, flanqueados por repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV. En el OMG final solo está presente el genoma del vector. Además, el vector plasmídico contiene un origen de replicación bacteriano y el gen que confiere resistencia a la kanamicina para posibilitar la propagación del plásmido en E. coli. Estos dos elementos no se transfieren al OMG final.	

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección

vi) otros, (especifíquense) Transfección de células de mamífero con plásmido del genoma del vector, un plásmido de empaquetamiento y un plásmido auxiliar, lo que da lugar a la producción de partículas del vector recombinante.

5. Si las repuestas 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 genoma del vector consta de un promotor sintético, un transgén que codifica los dominios funcionales esenciales del gen de la distrofina humana y una señal de poliadenilación, flanqueados por repeticiones terminales invertidas (RTI) del AAV.

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

Promotor sintético: Mus musculus, modificado y sintetizado químicamente

Gen que codifica los dominios funcionales del gen de la distrofina humana: Homo sapiens

Señal de poliadenilación: Bos Taurus

RTI: AAV2

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

Promotor sintético: dirigido específicamente a estimular la expresión génica en el músculo esquelético y cardíaco.

Dominios funcionales esenciales del gen de la distrofina humana (minidistrofina): La transferencia génica podría ser eficaz para el tratamiento de pacientes con distrofia muscular de Duchenne, dado que la enfermedad está causada por mutaciones en el gen dmd que afectan a la expresión o la actividad de la distrofina.

Señal de poliadenilación: finaliza la transcripción del gen de la minidistrofina.

RTI de VAA: Secuencias de repetición terminal invertida (RTI) necesarias para la síntesis de la segunda cadena del ADN necesaria para la expresión génica.

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

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros especifíquense): en el genoma vírico de ADN monocatenario

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: Homo
iv) Especie: Homo sapiens
v) Subespecie: N/P
vi) Cepa: N/P
vii) Cultivar/línea de reproducción: N/P
viii) Patovar: N/P
ix) Nombre vulgar: Ser 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	No	No se sabe
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<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: No procede		

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"/>
--	-----------------------------	-------------------------------------

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		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

Especifíquese:

El genoma viral PF-06939926 ha sido modificado de forma importante en comparación con el virus parental para hacer que carezca de capacidad de replicación. Los genes rep y cap del AAV se han sustituido por un casete de expresión eucariótico y únicamente se han mantenido las secuencias RTI virales, que son secuencias de ADN no codificadoras (< 300 pb). Por tanto, PF-06939926 no contiene genes víricos codificantes naturales.

El AAV natural requiere la presencia de un virus auxiliar, como un adenovirus humano o el virus del herpes simple, para replicarse. La replicación de PF-06939926 solo podría tener lugar en el caso extraordinariamente improbable de que una célula huésped resultara infectada por un AAV natural y un virus auxiliar, como un adenovirus humano o el virus del herpes simple.

c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

Como la replicación de PF-06939926 solo podría tener lugar en el caso extraordinariamente improbable de que una célula huésped resultara infectada por dos virus distintos (AAV natural y un virus auxiliar, como un adenovirus humano o el virus del herpes simple), la probabilidad de diseminación es menor que la del AAV natural.

d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese: No se conocen efectos patógenos del AAV natural en seres humanos. No se espera que la introducción del casete de expresión, que codifica la minidistrofina, cause la aparición de patogenicidad. Por tanto, ni el AAV natural ni PF-06939926 son patógenos ni se espera que lo sean. Cabe esperar que la eliminación de genes virales al fabricar el vector reduzca aún más el riesgo de patogenicidad.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El AAV es un virus ADN monocatenario que muestra un alto grado de estabilidad genética; basándose en ello, también se espera que PF-06939926 sea genéticamente estable. Se ha confirmado la integridad del genoma del vector.

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

Sí

No

No se sabe

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

El AAV no es patógeno y no se ha clasificado con arreglo a la Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. El AAV carece de efectos patógenos conocidos, a pesar de que la seroprevalencia estimada de algunos serotipos humanos frecuentes es del 80 %. En consecuencia, el AAV cumple la definición de agente biológico del grupo 1 según la Directiva 2000/54/CE (agente biológico que resulte poco probable que cause enfermedad en el hombre).

Una gran cantidad de datos generados en los últimos 20 años en más de 2000 pacientes (clinicaltrials.gov) indica que los riesgos de seguridad asociados a la transferencia génica del AAV son insignificantes.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: PF-06939926 puede detectarse mediante qPCR.
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: PF-06939926 puede identificarse mediante qPCR y secuenciación.

F. Información sobre la liberación

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

Estudio de fase III pediátrico de terapia génica con PF-06939926 en sujetos con distrofia muscular de Duchenne.

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>Hospital Universitari i Politecnic La Fe de Valencia (39°26'37"N 0°22'32"O)</p> <p>Avenida Fernando Abril Martorell, 106 46026 Valencia. Spain</p> <p>Hospital de La Santa Creu i Sant Pau (41°24'46"N 2°10'28"E)</p> <p>Carrer de Sant Quintí, 89, 08041 Barcelona. Spain</p> <p>Hospital Sant Joan de Deu (41°23'03"N 2°06'07"E)</p> <p>Passeig Sant Joan de Deu 2 08950 Esplugues de Llobregat. Spain</p> <p>Hospital Universitario Vall d'Hebrón (41°25'41"N 2°08'32"E)</p> <p>Paseo de la Vall d'Hebron, 119-129 08035, Barcelona. Spain</p>
<p>b) Área del lugar (m²):</p> <p>i) lugar real de la liberación (m²): No procede. No es posible definir una extensión específica del lugar de liberación porque PF-06939926 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico</p> <p>ii) área de liberación más amplia (m²): No procede. No es posible definir una extensión específica del lugar de liberación porque PF-06939926 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No procede. PF-06939926 se administrará en una infusión IV única en un entorno hospitalario. Por tanto, no cabe prever que entre en contacto con biotipos reconocidos ni zonas protegidas.</p>

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: La administración de PF-06939926 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no cabe prever que entre en contacto con flora, fauna ni el suelo.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: La dosis de PF-06939926 dependerá del peso y se prevé que sea de $2E+14$ vg/kg. Están previstos aproximadamente 99 pacientes en total y 8 pacientes en España

b. Duración de la operación: La duración del estudio se define para cada sujeto como de 5 o 6 años a partir de la fecha en que otorgue el consentimiento informado por escrito firmado. Se espera que el estudio dure entre 5 y 6 años; sin embargo, el tratamiento se administrará una vez mediante infusión IV y el resto del estudio se utilizará para observar los efectos del tratamiento.

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

PF-06939926 se enviará a los centros del estudio siguiendo las recomendaciones habituales para el transporte de materiales biológicos peligrosos. PF-06939926 será conservado, preparado y administrado por profesionales médicos cualificados, en un entorno hospitalario y únicamente a pacientes que cumplan los criterios de inclusión en el estudio clínico C3391003. El personal seguirá las normas en materia de residuos y eliminación siguiendo las instrucciones del promotor y siendo tratados como residuos biopeligroso. A partir de ahí, los hospitales aplicarán sus procedimientos específicos pero siempre considerando que se han de eliminar como residuos biopeligrosos.

PF-06939926 es un producto en investigación (PEI) liberado por una persona cualificada (PC) en un estado miembro de la Unión Europea, para uso en ensayos clínicos, tras haber cumplido las especificaciones definidas en cuanto a calidad y seguridad del producto para administración a seres humanos de acuerdo con el protocolo del estudio clínico. Además, se utilizará y se aprobará de conformidad con el protocolo del estudio clínico por las autoridades sanitarias y comités de ética del país en el que vaya a realizarse el estudio. Por este motivo, la cadena de suministro del PEI y su gestión en el centro están reguladas en el contexto de las normativas sobre ensayos clínicos, las leyes locales y las directrices aplicables en cuanto a recepción, conservación, manipulación, dispensación, contabilidad y devolución del PEI. En el manual de farmacia y el material de formación facilitado a los centros se proporcionan instrucciones sobre el uso, conservación y destrucción del PEI al personal de farmacia y clínico. Se incluyen también instrucciones para documentar el control del PEI desde el momento de su recepción en el centro del ensayo hasta el recuento final y su destrucción. Además, se describen los procesos necesarios para gestionar y documentar

posibles problemas, como desviaciones de la temperatura durante el transporte o la conservación, y para la notificación de reclamaciones técnicas por el producto. Los riesgos relacionados con la liberación al medio ambiente del OMG y los riesgos para el personal, en caso de que se produzca una alteración de la integridad del envase o la conservación o un vertido accidental en el centro o durante el transporte o conservación, se consideran insignificantes. El OMG será manipulado exclusivamente por el personal cualificado designado y, en caso de que se produzca un vertido, el producto no es patógeno y carece de capacidad de replicación, lo que limita la dispersión y los riesgos para el medio ambiente o el personal.

Los pacientes recibirán PF-06939926 en una sola infusión IV en un entorno clínico y permanecerán en el centro de la infusión o el centro del estudio durante al menos 24 horas después de recibir la dosis para una evaluación de sus constantes vitales. Además, en este estudio se evaluará la diseminación del vector vírico. De este modo se podrá conocer el momento en que cesa la diseminación del vector en saliva, orina y suero. Dado que PF-06939926 carece de capacidad de replicación, las partículas víricas diseminadas no pueden multiplicarse; por consiguiente, la dispersión del OMG es intrínsecamente baja.

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

No procede. La administración de PF-06939926 se realizará exclusivamente en un entorno clínico controlado.

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

PF-06939926 se ha administrado a ratones, ratas (WT y con DMD por genosupresión) y perros.

PF-06939926 se está investigando actualmente en un estudio de fase I, el primero en seres humanos, (C3391001) en un máximo de 12 pacientes. Se han registrado dos eventos adversos serios en pacientes. Los eventos adversos serios no estuvieron relacionados con los aspectos ambientales de la liberación del PI. Ambos pacientes se han recuperado completamente de su respectivo evento adverso.

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:	Homo
iv) Especie:	Homo sapiens
v) Subespecies:	N/P
vi) Cepa:	N/P
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	N/P
viii) Patovar:	N/P
ix) Nombre vulgar:	Ser humano

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

<p>PF-06939926 contiene un gen que codifica una proteína distrofina humana acortada. AAV9 tiene un fuerte tropismo por el músculo esquelético y cardíaco y otros tejidos. La expresión está estimulada por un promotor específico del músculo, encapsidado en una cápside de AAV9. Cabe esperar que la administración de PF-06939926 dé lugar a la expresión del transgén principalmente en el tejido muscular cardíaco y esquelético.</p> <p>La transferencia génica de los dominios funcionales esenciales de la distrofina humana podría ser eficaz para el tratamiento de los pacientes con distrofia muscular de Duchenne, dado que la enfermedad está causada por mutaciones en el gen dmd que afecta a la expresión o la actividad de la distrofina</p>
--

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

<p>No se expondrá a personas distintas de los sujetos tratados con el medicamento a concentraciones de PF-06939926 que puedan representar un posible riesgo. Una exposición mínima, como la exposición ambiental, de organismos distintos de los sujetos que reciban PF-06939926 como parte del estudio no constituiría una dosis suficiente para representar una expresión génica significativa ni posibles riesgos de seguridad. Dado que PF 06939926 también carece de capacidad de replicación, cabe esperar una eliminación rápida del vector de cualquier organismo que no sea objeto de la investigación sin causar ningún efecto perjudicial. Además, la expresión del</p>
--

transgén está diseñada para que se produzca únicamente en el tejido muscular esquelético y cardíaco. Aparte de los posibles huéspedes humanos, no cabe esperar que la exposición a PF-06939926 afecte a organismos que no sean objeto de la investigación, ya sea de manera directa o indirecta.

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: Dado que PF-06939926 es incapaz de replicarse, no puede producirse selección posterior a la liberación.

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

Dado que PF-06939926 es incapaz de replicarse, no cabe esperar que se disemine al ambiente en un grado significativo ni que se establezca en ningún ecosistema.

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 No procede

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: Cabe esperar que el genoma del vector PF-06939926 se transfiera a los tejidos corporales de los pacientes. Cabe prever que la inmensa mayoría de los genomas del vector PF-06939926 presentes en el interior de las células de los sujetos sean episómicos, en lugar de quedar integrados en el ADN de las células huésped. Dado que PF-06939926 carece de capacidad de replicación, y únicamente cabe prever que se disemine a los líquidos corporales de los sujetos del estudio en un grado

limitado, se consideran improbables la transmisión y transferencia génica a organismos distintos de los sujetos del estudio.

b) De otros organismos al OMG: La probabilidad de recombinación homóloga con virus relacionados que podrían dar lugar a variantes del OMG es muy reducida al ser las RTI las únicas secuencias virales que quedan en el vector, lo que representa solo el 6,5 % de la secuencia final del vector. No cabe esperar que el ADN de ningún organismo pueda transferirse a los episomas virales e incorporarse al genoma de PF-06939926.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Aunque la recombinación entre PF-06939926 y un AAV natural para generar un genoma de vector híbrido que contenga el transgén y los genes rep y cap de AAV sigue siendo una posibilidad teórica, una molécula de este tipo, aunque se generara en una célula, no podría replicarse a menos que hubiera también presencia de un adenovirus o virus herpes auxiliar. Por otro lado, este genoma híbrido sería demasiado grande para empaquetar el ADN híbrido en una partícula de AAV. El AAV tiene un límite de empaquetamiento de unas 5 kb (Wu, Yang, and Colosi 2010), y es previsible prever que una molécula híbrida que contenga los genes rep-cap más el casete de expresión de la minidistrofina supere este límite con unas 9 kb. Por tal motivo, los riesgos asociados a la transferencia génica de AAV natural a PF-06939926 se consideran insignificantes.

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 estudios de este tipo con PF-06939926

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

No se conoce ni cabe prever que PF-06939926 pueda influir en procesos biogeoquímicos

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se vigilará estrechamente la diseminación del vector. Otros métodos para vigilar los efectos de PF-06939926 consisten en evaluaciones de la seguridad y la eficacia.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

La presencia de PF-06939926 en líquidos corporales tras la administración de PF-06939926 se determinará mediante qPCR. No se prevén otros métodos.

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

La transferencia del genoma del vector a los sujetos del estudio se detectará mediante qPCR.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No procede; únicamente se utilizarán técnicas de seguimiento en relación con la diseminación del vector a líquidos corporales de los pacientes.

5. Duración del seguimiento

En el estudio de fase 3 de PF-06939926 en la DMD (C3391003) se recogerán datos sobre la diseminación que se prevé que proporcionen una caracterización definitiva del perfil de diseminación vírica. En dicho estudio se obtendrán muestras de tres matrices (sangre completa, saliva y orina) de aproximadamente los 45 primeros participantes aleatorizados.

Se realizarán evaluaciones de la seguridad y eficacia durante todo el estudio.

6. Frecuencia del seguimiento

Véase la sección H.5.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Todas las superficies contaminadas con PF-06939926 se desinfectarán con un desinfectante adecuado, como hipoclorito de sodio al 10 % o desinfectante a base de detergente. El tiempo mínimo de contacto requerido con PF-06939926 es de 20 minutos para el hipoclorito de sodio al 10 % o según se indique en la ficha técnica de una solución desinfectante alternativa equivalente. Al finalizar este tiempo de contacto, podrá limpiarse la zona de acuerdo con los procedimientos habituales locales. Este proceso deberá comentarse con el responsable local de seguridad y salud ambiental o con el comité de bioseguridad antes de recibir cualquier producto

de PF-06939926 en el centro, de forma que se disponga de un plan y suministros adecuados.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los viales sin usar deben conservarse en las condiciones de conservación exigidas (-90 °C a -60 °C); los viales usados o parcialmente usados pueden desecharse en el centro conforme a los requisitos establecidos por el promotor, siendo eliminados como residuos biopeligrosos. Los consumibles usados en la preparación del OMG que puedan haber estado en contacto con PF-06939926 se descontaminarán antes de ser eliminados como residuos biopeligrosos. Los residuos líquidos se descontaminarán usando un desinfectante químico adecuado o mediante autoclave. Los desinfectantes que son eficaces contra el AAV son el hipoclorito de sodio al 10 % o desinfectante a base de detergente.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

- Residuos de vial cerrado transparente de 10 ml que contiene PF-06939926. El número de viales de PF-06939926 necesarios por paciente dependerá de la cohorte de dosis y del peso corporal del paciente.
- Materiales utilizados en la preparación y administración del fármaco del estudio, por ejemplo, bolsa de solución salina, sistema de administración IV, jeringas y agujas.
- Equipo de protección personal, por ejemplo, guantes.

3. (b) Tratamiento de residuos

Véase el tratamiento posterior a la liberación I.2

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

Los procedimientos relacionados con el uso de todos los lotes de PF-06939926 se describen en la Ficha de datos de seguridad del material (MSDS) específica del compuesto. Además, salvo indicación en contra en las instrucciones para el personal, que también se facilitarán al personal del centro, todo el personal responsable del transporte, la preparación, la administración y la eliminación de PF-06939926 o de equipos y consumibles que hayan entrado en contacto con el producto designado para uso en el estudio clínico PF-06939926 deberán ser eliminados como residuos biopeligrosos. Tabla 1 En la se resumen los procedimientos que utilizará el personal para tratar las incidencias relacionadas con PF-06939926.

Tabla 1: Gestión de los incidentes relacionados con el producto PF-06939926

Incidente	Procedimiento
Vertido accidental	En caso de que se libere accidentalmente el contenido de un vial de PF 06939926 o producto para infusión diluido y que entre en contacto con materiales de transporte o superficies de la farmacia u hospital, el área debe ponerse en cuarentena de inmediato para evitar la exposición

	accidental o el seguimiento de PF-06939926 o placebo a otras áreas. El sitio debe usar procedimientos locales para lograr esto. Los kits de derrames que contienen solución de descontaminación, así como PPE desechables apropiados y materiales de limpieza de derrames DEBEN estar disponibles siempre cuando se maneja PF-06939926 o placebo. . Todas las superficies contaminadas con PF-06939926 se descontaminarán con un desinfectante adecuado, como hipoclorito de sodio al 10 %, Wescodyne o desinfectante a base de detergente. El tiempo mínimo de contacto requerido con PF-06939926 es de 20 minutos para el hipoclorito de sodio al 10 % o el que se indique en la ficha técnica de una solución descontaminante alternativa equivalente. Al finalizar este tiempo de contacto, podrá limpiarse la zona de acuerdo con los procedimientos habituales locales. Este proceso deberá comentarse con el responsable local de seguridad y salud ambiental o con el comité de bioseguridad antes de recibir cualquier producto de PF-06939926 en el centro, de forma que se disponga de un plan y suministros adecuados. Si se ha producido un derrame, al finalizar la descontaminación del área, el sitio debe comunicarse con el investigador del estudio y el monitor del estudio tan pronto como sea razonablemente posible para determinar los próximos pasos.
Lesión por objeto punzante	Debe limitarse al mínimo el uso de agujas. En caso de lesión, se seguirán los procedimientos de cada centro y se notificará al investigador principal (IP). El IP tendrá que informar al CRA.
Contacto con piel y ropa	Retirar la ropa contaminada. Lavar la zona con agua abundante. Utilizar jabón. Solicitar atención médica
Contacto con los ojos.	Lavar con agua con los párpados abiertos durante al menos 15 minutos. Solicitar atención médica inmediatamente.
<p>PF-06939926 se conserva en viales transparentes cerrados de 10 ml. Se advertirá al personal de que tenga precaución al manipular los viales y de que reduzca al mínimo el uso de agujas. En caso de lesión, el personal seguirá los procedimientos de cada centro.</p>	

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

Toda superficie expuesta al OMG se desinfectará con un desinfectante adecuado de conformidad con la legislación local y las políticas y procedimientos del centro. Los desinfectantes que son eficaces contra el AAV son el hipoclorito de sodio al 10% o desinfectante a base de detergente. Pueden utilizarse desinfectantes equivalentes disponibles en el centro de investigación si se ha demostrado su eficacia contra el AAV.

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

La administración de PF-06939926 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no cabe prever que entre en contacto con flora, fauna ni el suelo. Además, PF-06939926 no es capaz de infectar a plantas ni microbios.

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

El material que haya estado en contacto con el OMG debe de ser eliminado como residuo biopeligroso. Además, se facilitan recomendaciones de seguridad y orientación sobre el tratamiento de los incidentes relacionados con PF-06939926 en las instrucciones de seguridad para los investigadores y el personal adjuntas (se utilizará guantes, máscaras, batas y protección para los ojos al tomar las muestras de los pacientes. Debido a la pandemia actual, esto puede extenderse a cubrir el pie / calzado o un respirador en lugar de una máscara quirúrgica). Se vigilará estrechamente a todos los pacientes para detectar las reacciones adversas que puedan producirse durante este estudio. Un comité de vigilancia de los datos externo (CVDe) se encargará de controlar los datos de seguridad de este estudio.

Bibliografía:

- European Parliament and of the Council. 2000. 'Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work,'
- Wu, Z., H. Yang, and P. Colosi. 2010. 'Effect of genome size on AAV vector packaging', *Mol Ther*, 18: 80-6.