

**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/26/06
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	24 de febrero de 2026
d) Título del proyecto:	Estudio de fase I/II, el primero en humanos, abierto, multicéntrico y con dosis únicas para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia preliminar de NVC-001, un nuevo vector vírico adenoasociado (serotipo 9) que expresa un transgén SUN1 dominante negativo, en pacientes con miocardiopatía dilatada asociada a mutaciones en el gen <i>LMNA</i> .
e) Período propuesto para la liberación:	Fecha de inicio: septiembre de 2026 Fecha de finalización: julio de 2030

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa: Nuevacor Pte. Ltd.
--

3. Definición del OMG

a) Indíquese si el OMG es:		
Viroide		☐
Virus ARN		☐
Virus ADN		☒
Bacteria		☐
Hongo		☐
Animal		☐

	- mamíferos	☐
	- insectos	☐
	- peces	☐
	- otro animal	☐ especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)		
b) Identidad del OMG (género y especie) Familia: <i>Parvoviridae</i> Género: <i>Dependoparvovirus</i> Especie: virus adenoasociado		

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

En general, los virus ADN presentan una mayor estabilidad genética que los virus ARN. En primer lugar, el ADN tiene una mayor estabilidad termodinámica que el ARN; en segundo lugar, la replicación del ADN es un proceso mucho menos propenso a errores que la replicación del ARN; finalmente, en la célula hospedadora, existen más mecanismos para reparar errores en el ADN que en el ARN.

NVC-001 se fabrica mediante la transfección temporal de células HEK293T y el empleo de plásmidos totalmente definidos y secuenciados. La producción del vector en el proceso de fabricación y la síntesis de la segunda cadena del genoma vectorial dependen de la polimerasa del ADN del hospedador, que se caracteriza por una polimerización del ADN de alta fidelidad y una actividad exonucleasa de corrección de errores adicional, lo que da lugar a un índice de error muy bajo en la replicación del ADN.

Los datos preclínicos indican que, en la mayoría de los casos, el ADN aportado por vectores de AAV recombinantes persiste de forma predominante como elementos extracromosómicos (episomas), en lugar de integrarse en el genoma de las células hospedadoras. (Miao *et al.*, 1998; Miao *et al.*, 2000). Cuando se produce la integración, esta es aleatoria y relativamente rara (Nowrouzi *et al.* 2012; Kaepfel *et al.*, 2013; Gil-Farina *et al.*, 2016); y no se producen acontecimientos en los genes asociados a oncogénesis ni en sus proximidades. Se cree que el posible riesgo de que el genoma vírico se incorpore al ADN cromosómico del paciente se ha reducido aún más, ya que NVC-001 carece de los genes *rep* necesarios para la integración específica de sitio en el genoma de las células hospedadoras. Por tanto, se considera que el riesgo de mutagénesis de inserción es bajo o insignificante. Hasta la fecha, no se han notificado casos de mutagénesis de inserción en seres humanos en ningún ensayo clínico con vectores víricos de AAV con la capacidad de replicación reducida.

NVC-001 es incapaz de replicarse de forma independiente, incluso en presencia de un virus colaborador, como un adenovirus, ya que carece de los genes *rep* y *cap* necesarios para la replicación y el empaquetado, respectivamente. La incapacidad para replicarse se controla durante la fabricación del principio activo o del medicamento.

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 ☒

☐ No

En caso afirmativo, indique el código del país: Francia

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

Sí ☐

☒ No

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 ☐

☒ No

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación:
- Número de la notificación:

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

NVC-001 (AAV9-dnSUN1) es un vector de AAV9 recombinante, sin capacidad para replicarse, que expresa una forma dominante negativa de la proteína SUN1 natural (dnSUN1) bajo el control de un potenciador del módulo cis-regulador 4 cardiospecífico (CS-CRM4, por sus siglas en inglés) y un promotor sintético cardiospecífico de hTNNT2 específicamente para limitar la expresión en los cardiomiocitos. NVC-001 se está desarrollando para el tratamiento de pacientes con MCD asociada a LMNA. El vector se ha derivado del AAV9 natural, un miembro no patógeno de la familia *Parvoviridae*, mediante técnicas de ADN recombinante. En el AAV natural, el genoma del ADN monocatenario (ADNmc) contiene solamente dos genes: *rep*, proteínas codificadoras que intervienen en la replicación del ADN y *cap*, que, mediante un mecanismo de corte y empalme diferencial, codifica tres variantes de proteínas aminoterminales, VP1, VP2 y VP3, que forman la cápside del virus. En el genoma de NVC-001 recombinante, se han eliminado los genes *rep* y *cap* y se han sustituido por el casete de expresión génica terapéutica que codifica la forma dominante negativa de la proteína SUN1.

Todos los AAV precisan un virus colaborador, como un adenovirus o el virus del herpes simple, para replicarse. Sin embargo, un AAV recombinante como NVC-001 carece de los genes *rep* y *cap* del AAV natural necesario para que el virus se replique y, por tanto, NVC-001 no puede provocar una infección por replicación. NVC-001 transducirá únicamente células del destinatario del estudio y, después de la internalización en el cardiomiocito, el casete del transgén, controlado por el potenciador del módulo cis-regulador 4 cardiospecífico (CS-CRM4) y el promotor sintético cardiospecífico de hTNNT2, permitirá la expresión de dnSUN1 en los cardiomiocitos.

A causa del extremadamente bajo número de partículas de NVC-001 que pueden liberarse al medio ambiente durante el estudio, ya sea de manera fortuita o mediante la excreción, es improbable que se produzca una transferencia génica horizontal. Incluso si esta se produjera, las secuencias de NVC-001 no conferirían ninguna ventaja selectiva a las bacterias: NVC-001 no contiene ningún promotor procariótico.

Cualquier NVC-001 liberado de manera externa al participante del estudio tendrá un impacto mínimo en el medio ambiente, ya que NVC-001 es incapaz de replicarse

de forma independiente, incluso en presencia de un virus colaborador, como un adenovirus, ya que carece de los genes *rep* y *cap* necesarios para la replicación y el empaquetado, respectivamente.

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	☐
Virus ARN	☐
Virus ADN	☒
Bacteria	☐
Hongo	☐
Animal	☐
- mamíferos	☐
- insectos	☐
- peces	☐
- otro animal	☐
(Especifique el phylum y la clase)	
Otros, (especifíquense)	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): <i>Parvoviridae</i>
ii) Género: <i>Dependoparvovirus</i>
iii) Especie: Dependoparvovirus A adenoasociado
iv) Subespecie: NP
v) Cepa: NP
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): AAV9
vii) Nombre vulgar: NP

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, (especifíquense) Los hospedadores son seres humanos y primates no humanos
b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: NP

5. a) Técnicas de detección

Se utiliza una reacción en cadena de la polimerasa digital en nanogotas (ddPCR) para detectar secuencias de genoma vectorial de modo cuantitativo a partir de cebadores específicos para secuencias naturales, como los genes *rep* y *cap*. Esta detección puede ser selectiva para serotipos, en función de la secuencia del cebador elegida. La presencia de genomas víricos no tiene por qué implicar que la partícula del virus sea infecciosa.

Método ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción). Los métodos basados en ELISA pueden detectar cápsides intactas, a partir de anticuerpos monoclonales frente a la cápside de la partícula vírica. No obstante, esta técnica depende de que un anticuerpo monoclonal reconozca los serotipos. En el mercado, se comercializan kits de ELISA, pero, en la actualidad, únicamente abarcan unos pocos serotipos de AAV.

5. b) Técnicas de identificación

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Puede utilizarse una PCR de una región diana del virus para identificar la especie con cebadores únicos para el serotipo. Además, la secuenciación de Sanger del producto de la PCR confirmará la identidad.

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: Agente biológico del grupo de riesgo 1 según la Directiva 2000/54/CE, definido en la UE como aquel «que resulte poco probable que cause enfermedad en el hombre»

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.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: En los ecosistemas naturales, el AAV sin mutaciones requiere la coinfección de un virus colaborador para su replicación. En presencia de un virus colaborador, el ciclo de replicación del AAV tarda entre 24 y 48 horas. No ocurre en ausencia de un virus colaborador apropiado.
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: En el ecosistema donde tiene lugar la liberación, el AAV sin mutaciones requiere la coinfección de un virus colaborador, por lo que la replicación en un hospedador infectado puede tardar entre 24 y 48 horas, pero no ocurre en ausencia de un virus colaborador apropiado.
c) Modo de reproducción Sexual ☐ NP Asexual ☐ NP
d) Factores que afectan a la reproducción: La reproducción del AAV sin mutaciones depende de la coinfección con virus colaboradores (p. ej., adenovirus o herpesvirus). Su capacidad de replicación depende de las secuencias víricas <i>rep</i> y <i>cap</i> .

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	☐

ix) otras (especifíquense) El genoma vectorial del AAV recombinante puede persistir en las células hospedadoras en forma de concatémeros episómicos
b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia Los parvovirus son virus estables que pueden persistir en el medio ambiente durante períodos de tiempo muy largos.

10. a) Vías de diseminación

El AAV puede transmitirse por contacto directo o indirecto con los humores corporales de una persona afectada.
--

10. b) Factores que afectan a la diseminación

La replicación de los vectores del AAV solo es posible en células que se hayan coinfectado con un virus colaborador, por ejemplo, un adenovirus o el virus del herpes simple, y que exprese los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> del AAV a partir de un virus AAV natural.

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)

NP

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

i) Inserción de material genético	☒
ii) Eliminación de material genético	☒
iii) Sustitución de una base	☐
iv) Fusión celular	☐
v) Otro (especifíquese)	

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

NVC-001 (AAV9-dnSUN1) es un vector vírico adenoasociado de serotipo 9 (AAV9) monocatenario, recombinante e incapaz de replicarse. Se han eliminado los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> y se han sustituido por el casete de expresión génica terapéutica que codifica la forma dominante negativa de la proteína SUN1. La eliminación de los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> hace que el vector vírico de NVC-001 sea incapaz de replicarse. Los únicos elementos víricos residuales son las repeticiones terminales invertidas (RTI), que son necesarias para la fabricación de NVC-001. El genoma vectorial contiene
--

elementos funcionales clave necesarios para la expresión génica, tales como repeticiones terminales invertidas (RIT) de AAV2, un intrón pCI-Neo, el elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis de la marmota (WPRE, por sus siglas en inglés) con mutaciones para eliminar la transcripción de la proteína X y una señal de poliadenilación de la somatotropina bovina, todos ellos bajo el control del potenciador CS-CRM4 cardiospecífico y el promotor sintético cardiospecífico de hTNNT2 para limitar la expresión en los cardiomiocitos.

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):	
b) Identidad del vector: Se utilizan tres plásmidos (cis-, trans- y colaborador) para suministrar todos los componentes necesarios para fabricar NVC-001. Se obtuvieron mediante ADN sintético y técnicas habituales de biología molecular para formar las estructuras definitivas de los plásmidos.	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Los plásmidos se han propagado en bacterias y se han seleccionado en función de su resistencia a los antibióticos.	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí ☒	☐ No

Resistencia a los antibióticos	☒												
Otras (especifíquese)													
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: Kanamicina (gen <i>nptII</i>)													
e) Fragmentos constituyentes del vector Los componentes necesarios para la fabricación de NVC-001 se obtendrán mediante plásmidos. Estos plásmidos contendrán el casete del transgén flanqueado por RTI, los genes <i>rep</i> de AAV-2 (para la replicación y el empaquetamiento del casete del transgén), el gen <i>cap</i> del AAV9 (necesario para fabricar la cápside) y genes colaboradores adenovíricos.													
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="padding: 5px;">i) transformación</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">☐</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">ii) electroporación</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">☐</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">iii) macroinyección</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">☐</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">iv) microinyección</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">☐</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">v) infección</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">☐</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">vi) otros, (especifíquense) Transfección</td> <td></td> </tr> </table>		i) transformación	☐	ii) electroporación	☐	iii) macroinyección	☐	iv) microinyección	☐	v) infección	☐	vi) otros, (especifíquense) Transfección	
i) transformación	☐												
ii) electroporación	☐												
iii) macroinyección	☐												
iv) microinyección	☐												
v) infección	☐												
vi) otros, (especifíquense) Transfección													

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 casete de expresión está flanqueado por repeticiones terminales invertidas (RTI) derivadas de AAV2 y consta de: • Versión mut6 del elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis de la marmota (WPRE) • Promotor sintético de hTNNT2 • Potenciador CS-CRM4 • Intrón pCI-Neo • dnSUN1 • Señal de poliadenilación
b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: El ADN de dnSUN1 es de origen humano; el potenciador CS-CRM4 es de origen humano; el WPRE es de origen vírico; el promotor sintético de hTNNT2 es de origen humano y el intrón pCI-Neo es de origen humano. La secuencia de poliadenilación es de origen mamífero (bovino). El fragmento de inserción también contiene RTI de AAV2, que son las únicas secuencias de ADN vírico del vector.
c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG • Elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis de la marmota (WPRE) con mutaciones para eliminar la transcripción de la proteína X: potenciar la expresión del transgén dnSUN1 • Promotor sintético de hTNNT2: impulsar y limitar la expresión de dnSUN1 en los cardiomiocitos. • Potenciador CS-CRM4: limitar la expresión en los cardiomiocitos • Intrón pCI-Neo: mejorar la eficacia del vector • dnSUN1: fragmento de inserción génica terapéutica que expresa la proteína dnSUN1 • Señal de poliadenilación: añadir la cola de poliadenilación al ARNm y mantener su estabilidad.
d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor: - en un plásmido libre ☐ - integrado en el cromosoma ☐ - Otros (especifíquense): Concatémeros episómicos en la célula hospedadora.
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	☐
Virus ARN	☐
Virus ADN	☐
Bacteria	☐
Hongo	☐
Animal	☒
- mamíferos	☒
- insectos	☐
- peces	☐
- otro animal	☐ (especifique el phylum y la clase)
Otros (especifiquense)	

2. Nombre completo

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

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

Sí ☐	☒ No	No se sabe ☐
En caso afirmativo, especifíquese:		
a) ¿para cuál de los organismos siguientes? humanos ☐ animales ☐ plantas ☐ otros ☐		
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí ☐	☒ No	No se sabe ☐
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 ☐	☒ No
En caso afirmativo, especifíquese:	

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

Sí ☒	☐ No	No se sabe ☐
--	-----------------------------	-------------------------------------

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 ☐	☒ No	No se sabe ☐
Especifíquese		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		
Sí ☒	☐ No	No se sabe ☐

Especifíquese: Se ha modificado NVC-001 con respecto al AAV original mediante la eliminación de todos los genes víricos y su sustitución por un casete de expresión. Las únicas secuencias víricas que permanecen son las RTI. La WPREmut-6 es una secuencia genomanipulada de origen vírico que se introdujo en NVC-001. Ambas son secuencias no codificantes. NVC-001 es incapaz de replicarse de forma independiente, incluso en presencia de un virus colaborador, como un adenovirus, ya que carece de los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> necesarios para la replicación y el empaquetado, respectivamente.
c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación? Sí ☒ ☐ No No se sabe ☐ Especifíquese: A causa de la eliminación de los genes víricos, NVC-001 es incapaz de replicarse de forma independiente, incluso en presencia de un virus colaborador. Por tanto, es improbable que se disemine.
d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad? Sí ☐ ☒ No No se sabe ☐ Especifíquese:

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

NVC-001 es un vector de AAV monocatenario y, como tal, demuestra una gran estabilidad del ADN en la forma predominante de concatémeros episómicos.

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? ☐ animales ☐ plantas ☐ otros ☐ 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		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: NVC-001 puede detectarse mediante una PCR cuantitativa.
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: NVC-001 puede identificarse mediante una PCR cuantitativa que utilice cebadores exclusivos para el casete de expresión de NVC-001.

F. Información sobre la liberación

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

NVC-001 va a utilizarse en el ensayo clínico NVC001-PT-CL-001. Se trata de un estudio de fase I/II, el primero en humanos, abierto, multicéntrico y con dosis únicas para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia preliminar de NVC-001, un nuevo vector vírico adenoasociado (serotipo 9) que expresa un transgén SUN1 dominante negativo, en pacientes con miocardiopatía dilatada asociada a mutaciones en el gen *LMNA*. Los objetivos son evaluar la seguridad de NVC-001 administrado sistémicamente a participantes adultos con MCD asociada a LMNA.

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 ☒	☐ No
En caso afirmativo, especifíquese: No procede. El OMG no se encuentra en la naturaleza. El OMG incapaz de replicarse se administra en el contexto de un ensayo clínico.	

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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): • Hospital Universitario Vall d'Hebron Passeig Vall d'Hebron, 119-129, 08035, Barcelona, España • Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda C/ Joaquín Rodrigo, 2, 28220, Majadahonda, Madrid, España C/ Manuel de Falla, 1, 28222, Majadahonda, Madrid, España
b) Área del lugar (m²):

i) lugar real de la liberación (m²): No procede. No puede definirse un área específica de liberación, ya que NVC-001 se administrará a los pacientes en el marco de un ensayo clínico. ii) área de liberación más amplia (m²): No procede. No puede definirse un área específica de liberación, ya que NVC-001 se administrará a los pacientes en el marco de un ensayo clínico.
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No procede, ya que NVC-001 se administrará en un entorno hospitalario.
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: No procede, ya que NVC-001 se administrará en un entorno hospitalario.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: La dosis máxima de NVC-001 seleccionada para este ensayo clínico es de $6,0 \times 10^{13}$ gv/kg de peso corporal. Participarán en este estudio 24 pacientes.
b. Duración de la operación: Aproximadamente, 3 años y 10 meses.
c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación: De conformidad con las directrices de seguridad biológica vigentes para los organismos modificados genéticamente de Nivel 1 de Seguridad biológica (Manual de bioseguridad en el laboratorio de la OMS, 2004; Anexo IV de la Directiva 2009/41/CE), las instalaciones médicas suelen seguir las siguientes prácticas de seguridad biológica habituales en la manipulación de materiales potencialmente biopeligrosos: - Acceso restringido - Almacenamiento de total seguridad - Formación del personal - Disponibilidad de EPI (batas de laboratorio, batas de protección, guantes y gafas de seguridad) Establecimiento de prácticas ordinarias para manejar materiales potencialmente biopeligrosos, como muestras/líquidos de pacientes y residuos médicos (autoclaves, contenedores para objetos punzocortantes, incineradoras, desinfectantes y superficies adecuadas de fácil limpieza).

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

No procede. La administración de NVC-001 se producirá en un entorno hospitalario, en salas de tratamiento con condiciones ambientales de interiores.

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

Se trata del primer estudio en humanos; NVC-001 no se ha liberado con anterioridad al medioambiente.

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): NP
iii)	Género: <i>Homo</i>
iv)	Especie: <i>sapiens</i>
v)	Subespecie: NP
vi)	Cepa: NP
vii)	Cultivar/línea de reproducción: NP
viii)	Patovar: NP
ix)	Nombre vulgar: Humanos

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

NVC-001 se introducirá en el paciente por administración directa mediante infusión intravenosa. NVC-001 circulará por el organismo del paciente y penetrará en las células del receptor mediante unión y captación mediada por el receptor. NVC-001 se transportará hasta el núcleo, donde se liberará el dnSUN1 transgén del ADN monocatenario, que codifica la proteína SUN1. Puesto que NVC-001 contiene un genoma vectorial de ADN monocatenario, las copias monocatenarias deben convertirse en bicatenarias para la expresión funcional, ya sea mediante la síntesis de la segunda cadena o por hibridación de cadenas positivas y negativas de ADN. Un porcentaje de los genomas formará episomas estables, que darán lugar a la expresión estable del transgén. El promotor y el potenciador cardiospecíficos limitarán la traducción del genoma vírico de forma predominante a los cardiomiocitos.

SUN1 natural (wtSUN1, por sus siglas en inglés) es una proteína nuclear presente en todas las células que, junto con la nesprina, forma el complejo LINC (*Linker of*

Nucleoskeleton and Cytoskeleton, conector del nucleoesqueleto y el citoesqueleto) que conecta físicamente la membrana nuclear con las proteínas citoesqueléticas extranucleares. Las fuerzas contráctiles normales de los cardiomiocitos transmitidas al núcleo mediante el complejo LINC pueden tener efectos dañinos en las células cuando los filamentos de la lamina que resisten la transmisión de la fuerza a los núcleos no existen o son disfuncionales, tal como se ha observado en pacientes con truncamiento patogénico o mutaciones de aminoácido en *LMNA*. Es decir, que las fuerzas contráctiles transmitidas mediante el complejo LINC provoca graves perturbaciones en el núcleo de los cardiomiocitos y da lugar al desarrollo de miocardiopatías. La proteína dominante negativa dnSUN1 es una versión truncada de wtSUN1 que carece del dominio que se fija a la lamina nuclear y, si bien puede participar en la formación del complejo LINC, es incapaz de transmitir fuerzas contráctiles al núcleo. Este desacoplamiento del complejo LINC de la membrana nuclear puede visualizarse por el desplazamiento de la nesprina de la membrana nuclear. En consecuencia, se anula la perturbación del núcleo y se detiene el desarrollo de la miocardiopatía.

Se ha demostrado que la alteración de la capacidad del complejo LINC de transmitir fuerzas al núcleo, incluso mediante la expresión de dnSUN1, en modelos de enfermedad en *LMNA*, anula los efectos patogénicos de las mutaciones en *LMNA* en el corazón y otros órganos (Chai *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2018). Al expresar selectivamente una forma dominante negativa de SUN1 mediante un promotor específico de los cardiomiocitos en cardiomiocitos con mutaciones patogénicas en *LMNA*, se prevé que NVC-001 ofrezca los posibles efectos beneficiosos de la atenuación de SUN1 de un modo selectivo para los tejidos y dosodependiente.

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

No se sabe que el AAV infecte a ningún organismo del medio ambiente, salvo a los primates. Existe la posibilidad de que la transferencia de genes pueda hacerse a otros seres humanos; sin embargo, puesto que la cantidad sería muy pequeña y el OMG es incapaz de replicarse (ni siquiera en presencia de un virus colaborador), el riesgo de interacción con otros organismos en el medio ambiente sería insignificante.

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	No se sabe
Especifíquese:		

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

NVC-001 es un vector de AAV incapaz de replicarse, y no se prevé que se disemine en el medio ambiente en cantidades significativas; se considera que el riesgo para el medio ambiente y la población humana es insignificante.

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): NP
ii) Familia (plantas): NP
iii) Género: NP
iv) Especie: NP
v) Subespecie: NP
vi) Cepa: NP
vii) Cultivar/línea de reproducción: NP
viii) Patovar: NP
ix) Nombre vulgar: NP

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo:

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Es improbable que la excreción del ADN vectorial presente partículas infecciosas; la cantidad de partículas del vector en sujetos no diana será muchas veces inferior que en pacientes a quienes se administre NVC-001. Además, el vector no es patógeno ni puede replicarse; las partículas víricas excretadas son incapaces de multiplicarse y, por ello, su diseminación se ve limitada de forma natural. Por tanto, el riesgo para terceras personas, como familiares y personal sanitario, se considera insignificante. Por su incapacidad de replicación, la naturaleza no infecciosa del ADN excretado y las insignificantes cantidades excretadas, el riesgo para el medio ambiente se considera insignificante.
b) De otros organismos al OMG: NVC-001 no contiene los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> necesarios para la replicación; por tanto, la repercusión de otros organismos es mínima.
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Activación del sistema inmunitario.

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.):

Hasta la fecha, no se ha llevado a cabo ningún estudio con NVC-001.

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

No se sabe ni se prevé que NVC-001 tenga ninguna repercusión en los procesos biogeoquímicos.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se evaluará la excreción del vector de AAV9 en muestras de sangre, orina y saliva únicamente en la parte de la fase II del estudio. Las muestras podrán obtenerse hasta que se alcance el límite inferior de cuantificación (LIC) en tres muestras consecutivas o hasta que se alcance una meseta en tres muestras consecutivas. La excreción del virus se determinará mediante una PCR cuantitativa.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Véase la sección H.1.

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

Se ha demostrado que el material procedente de la excreción no es infeccioso y, por lo tanto, no se prevé la transferencia de material genético donado del paciente a otros organismos.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No procede, ya que la administración a los pacientes se hará en el contexto de un ensayo clínico.

5. Duración del seguimiento

Se someterá a seguimiento a los pacientes del ensayo clínico a lo largo de todo el estudio y hasta 104 semanas después de la administración de NVC-001. Una vez finalizada la visita de la semana 104, se pedirá a todos los participantes que continúen el seguimiento en un estudio de seguimiento a largo plazo (SLP) aparte durante otras 36 semanas, hasta llegar a un total de 60 meses de seguimiento global desde el momento de la administración.

6. Frecuencia del seguimiento

El seguimiento se llevará a cabo conforme al calendario predefinido en el protocolo del estudio después de la administración de NVC-001.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Cualquier superficie contaminada con NVC-001 se descontaminará con arreglo a los procedimientos locales habituales para el manejo de derrames de sangre. Limpieza y desinfección del área de preparación de la infusión de NVC-001 una vez finalizada esta conforme a los procedimientos del centro con un desinfectante con eficacia demostrada contra los AAV. Deberán utilizarse desinfectantes eficaces,

como el hipoclorito de sodio (lejía), Wescodyne® o desinfectantes a base de detergente.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Cualquier vector de NVC-001 sin usar de los viales deberá depositarse y cerrarse herméticamente en envases primarios y secundarios a prueba de fugas. Todos los residuos deben depositarse en doble bolsa con el símbolo de riesgo biológico y cerrarse herméticamente con cinta adhesiva. A continuación, la bolsa deberá tirarse a un contenedor para residuos biológicos para su destrucción por parte de la Farmacia del centro con arreglo a la política del centro.

La eliminación o inactivación del medicamento sobrante al finalizar el ensayo clínico se lleva a cabo conforme a la política local y la práctica habitual de la institución en materia de materiales potencialmente biopeligrosos.

3. (a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Viales con NVC-001. El número de viales depende de la dosis y el peso del participante del estudio. Materiales empleados para la administración, equipos de infusión y equipos de protección individual, según los lleve el personal del centro.

3. (b) Tratamiento de residuos:

Todos los residuos se eliminarán de conformidad con la política local.

En el centro médico, esto implicará depositarlos temporalmente en contenedores para objetos punzocortantes o en bolsas claramente identificadas (por ejemplo, como riesgo biológico o residuos médicos) antes de esterilizarlos en un autoclave a 121 °C durante 30-45 minutos o incinerarlos en el centro o fuera de este, de conformidad con las directrices institucionales del centro para el manejo de materiales potencialmente infecciosos.

Todos los materiales empleados para la infusión, tales como jeringas, vías de infusión y filtros, que hayan entrado en contacto con NVC-001 deberán depositarse y cerrarse herméticamente en envases primarios y secundarios a prueba de fugas. Todos los residuos deben depositarse en doble bolsa con el símbolo de riesgo biológico y cerrarse herméticamente con cinta adhesiva. A continuación, la bolsa deberá tirarse a un contenedor para residuos biológicos para su destrucción por parte de la Farmacia del centro con arreglo a la política del centro.

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

En caso de que se produzca un derrame accidental de NVC-001, la zona del derrame se descontaminará con desinfectante, por ejemplo, lejía, Wescodyne® o desinfectante a base de detergente, y se tratará con arreglo a la normativa local para derrames biopeligrosos.

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

Las superficies se desinfectarán con un desinfectante adecuado, por ejemplo, hipoclorito de sodio (lejía) o Wescodyne®, o el viricida equivalente que cuente con autorización local, de conformidad con la normativa local.

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

No procede; la administración de NVC-001 tendrá lugar en un entorno hospitalario controlado y correrá a cargo de personal con la formación adecuada.

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

El personal seguirá la normativa local para el manejo y eliminación de organismos modificados genéticamente y riesgos biológicos. Se someterá a todos los pacientes a seguimiento para detectar acontecimientos adversos, tal como se detalla en el protocolo del ensayo clínico.

Referencias bibliográficas:

- Gil-Farina I, Fronza R, Kaeppel C, Lopez-Franco E, Ferreira V, D'Avola D, Benito A, Prieto J, Petry H, Gonzalez- Aseguinolaza G, Schmidt M. Recombinant AAV integration is not associated with hepatic genotoxicity in nonhuman primates and patients. *Mol Ther.* 2016 Jun;24(6):1100-1105.
- Kaeppel C, Beattie SG, Fronza R, van Logtenstein R, Salmon F, Schmidt S, Wolf S, Nowrouzi A, Glimm H, von Kalle C, Petry H, Gaudet D, Schmidt M. A largely random AAV integration profile after LPLD gene therapy. *Nat Med.* 2013; 19(7):889-891.
- Miao CH, Snyder RO, Schowalter DB, Patijn GA, Donahue B, Winther B, Kay MA. The kinetics of rAAV integration in the liver. *Nat Genet.* 1998 May;19(1):13-5.
- Miao CH, Nakai H, Thompson AR, Storm TA, Chiu W, Snyder RO, Kay MA. Nonrandom Transduction of recombinant adeno-associated virus vectors in mouse hepatocytes in vivo: cell cycling does not influence hepatocyte transduction. *J. Virol.* 2000; 3793-3803.
- Nowrouzi A, Penaud-Budloo M, Kaeppel CH, Appelt U, Le Guiner C, Moullier P, von Kalle C, Snyder RO, Schmidt M. Integration frequency and intermolecular recombination of rAAV vectors in non-human primate skeletal muscle and liver. *Mol. Therapy.* 2012; 20(6):1177-1186.