

PROMOTORES DE CÉLULA DE SOPORTE VESTIBULAR Y USOS DE ESTOS

Listado de secuencias

La presente solicitud contiene un Listado de secuencias que se presentó de forma electrónica en formato ASCII y se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia. La copia ASCII, creada el 28 de abril de 2022, se denomina 51471-010WO2_Sequence_Listing_4_28_22_ST25 y tiene un tamaño de 41.804 bytes.

Antecedentes

La disfunción vestibular es un problema importante de salud pública que tiene profundas consecuencias en la calidad de vida. Aproximadamente el 35 % de los adultos estadounidenses de 40 años o más presentan trastornos del equilibrio y esta proporción aumenta drásticamente con la edad, lo que lleva a la alteración de las actividades diarias, la disminución del estado de ánimo y la cognición y una mayor prevalencia de caídas en las personas mayores. La disfunción vestibular es a menudo adquirida y tiene una variedad de causas, que incluyen enfermedad o infección, traumatismo craneoencefálico, fármacos ototóxicos y envejecimiento. Un factor común en la etiología de la disfunción vestibular es el daño a las células ciliadas vestibulares del oído interno. Por lo tanto, las terapias destinadas a restaurar la función de las células ciliadas serían beneficiosas para los pacientes que padecen disfunción vestibular. Se sabe que las células de soporte vestibulares se diferencian espontáneamente en células ciliadas después de un daño y, por lo tanto, pueden servir como una diana terapéutica adecuada para restaurar la función de las células ciliadas.

Compendio de la Invención

La invención proporciona composiciones y métodos para promover la expresión de un gen de interés, tal como un gen que promueve o mejora la función, regeneración, maduración, proliferación o supervivencia de las células ciliadas o células de soporte, en tipos celulares específicos. Las composiciones y métodos descritos en el presente documento se refieren a secuencias promotoras del miembro 14 de la familia 6 de transportadores de soluto (SLC6A14) que pueden usarse para inducir la expresión de un transgén en células de soporte vestibulares (VSC, por sus siglas en inglés) del oído interno. Las secuencias promotoras de SLC6A14 descritas en el presente documento pueden unirse operativamente a un transgén y pueden administrarse a un paciente para tratar disfunción vestibular (por ejemplo, vértigo, mareos, desequilibrio, vestibulopatía bilateral, hipofunción vestibular bilateral, oscilopsia o un trastorno del equilibrio). Las secuencias promotoras de SLC6A14 descritas en el presente documento demuestran una alta especificidad de tipo celular al impulsar una alta expresión de un transgén unido operativamente en células de soporte vestibulares con una expresión mucho menor en

otros tipos de células del oído interno, como las células ciliadas.

En un primer aspecto, la invención proporciona un vector de ácido nucleico que comprende un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más, de identidad de secuencia) con la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene al menos 90 % de secuencia con la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene al menos un 95 % de secuencia con la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 1.

En algunas modalidades, el polinucleótido está operativamente unido a un transgén. En algunas modalidades, el transgén es un transgén heterólogo. En algunas modalidades, el transgén codifica una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica o una proteína indicadora), un ARN de horquilla corta (ARNhc), un oligonucleótido antisentido (ASO), una nucleasa (por ejemplo, proteína 9 asociada a CRISPR (Cas9), nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN), nucleasa con dedos de zinc (ZFN) o ARN guía (ARNg)) o un microARN. En algunas modalidades, el transgén codifica una proteína.

En algunas modalidades, el polinucleótido dirige la expresión específica de la célula de soporte vestibular (VSC) de la proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica o una proteína indicadora), ARNhc, ASO, nucleasa o microARN en una VSC de mamífero. En algunas modalidades, la VSC es una VSC humana.

En algunas modalidades, la proteína codificada por el transgén operativamente unido al polinucleótido es el factor de transcripción 2 tipo Spalt (Sall2), activador de transcripción 1 de unión a Calmodulina (Camta1), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes con motivo YRPW 2 (Hey2), proteína de unión a Gata 2 (Gata2), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes con motivo YRPW 1 (Hey1), ceramida sintasa 2 (Lass2), SRY caja 10 (Sox10), proteína 3 de unión a GATA (Gata3), homeobox 1 tipo Cut (Cux1), miembro del grupo F de la subfamilia 2 de receptores nucleares (Nr2f1), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes (Hes1), receptor B huérfano relacionado con RAR (Rorb), subunidad del factor de transcripción AP-1 del protooncogén Jun (Jun), proteína 667 con dedo de zinc (Zfp667), homeobox LIM 3 (Lhx3), hélice-bucle-hélice nesciente 1 (Nhlh1), proteína de dimerización MAX 4 (Mxd4), proteína 1 de tipo que contiene MIZ con dedos de zinc (Zmiz1), factor de transcripción de mielina 1 (Myt1), transductor de señal y activador de transcripción 3 (Stat3), homeobox 1 de tipo BarH (Barhl1), caja de grupo de alta movilidad asociada a la selección de timocitos (Tox), Homeobox prospero 1 (Prox1), factor nuclear I A (Nfia), receptor beta de la hormona tiroidea (Thrb), factor de transcripción BHLH del protooncogén MYCL (Mycl1), lisina demetilasa 5A (Kdm5a), proteína 3 de unión al elemento de respuesta a CAMP de tipo 4 (Creb3l4), variante 1 de ETS

(Etv1), 3 paternalmente expresada (Peg3), dominio BTB y homólogo de CNC 2 (Bach2), homeobox ISL LIM 1 (Isl1), 38 que contiene dedos de zinc y dominio BTB (Zbtb38), desarrollo de las extremidades y el corazón (Lbh), factor de transcripción bipartito Tubby (Tub), Ubiquitina C (Hmg20), factor de transcripción de silenciamiento de RE1 (Rest), proteína 827 con dedos de zinc (Zfp827), miembro 3 de la familia AF4/FMR2 (Aff3), homeobox 2 de PBX/anudada 1 (Pknx2), dominio de interacción rico en AT de 3B (Arid3b), proteína de interacción MLX (Mlxip), proteína con dedos de zinc (Zfp532), dedos de zinc 2 de la familia IKAROS (Ikzf2), factor de transcripción 1 tipo Spalt (Sall1), SIX Homeobox 2 (Six2), factor de transcripción 3 tipo Spalt (Sall3), homólogo B de Lin-28 (Lin28b), factor regulador X7 (Rfx7), factor neurotrófico derivado del cerebro (Bdnf), represor transcripcional del factor de crecimiento independiente 1 (Gfi1), POU clase 4 homeobox 3 (Pou4f3), factor de transcripción BHLH del protooncogén MYC (Myc), β -catenina (Ctnnb1), SRY-Box 2 (Sox2), SRY-Box 4 (Sox4), SRY-Box 11 (Sox11), factor de transcripción 2 del dominio TEA (Tead2), factor de transcripción BHLH atonal 1 (Atoh1) o una variante de Atoh1.

En algunas modalidades, la proteína codificada por el transgén operativamente unido al polinucleótido es Atoh1 o una variante de Atoh1. En algunas modalidades, la variante de Atoh1 tiene una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A y S328A/S331A/S334 en relación con la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, la proteína es Atoh1 (por ejemplo, Atoh1 humana). En algunas modalidades, la proteína Atoh1 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 4 o una variante de esta que tiene una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más) sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas modalidades, la proteína Atoh1 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 6 o una variante de esta que tiene una o más (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más) sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas modalidades, no más del 10 % (10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % o menos) de los aminoácidos en la variante de la proteína Atoh1 son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas modalidades, la proteína Atoh1 tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, la proteína Atoh1 está codificada por la secuencia de la SEQ ID NO: 5. En algunas modalidades, la proteína Atoh1 tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 6. En algunas modalidades, la proteína Atoh1 está codificada por la secuencia de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico incluye además secuencias de repetición terminal invertida (ITR, por sus siglas en inglés). En modalidades en las que el vector de ácido nucleico incluye un polinucleótido de la invención unido operativamente a un transgén, el vector de ácido nucleico incluye una primera secuencia ITR hacia 5' del polinucleótido y una segunda secuencia ITR hacia 3' del transgén. En algunas modalidades, las ITR son ITR de AAV2. En algunas modalidades, las ITR tienen al menos un 80 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85

%, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a las ITR de AAV2.

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico incluye además una secuencia de poliadenilación (poli(A)). En algunas modalidades, la secuencia de poli(A) es una secuencia de señal de poli(A) de la hormona del crecimiento bovino (bGH). En modalidades en las que el vector de ácido nucleico incluye un polinucleótido de la invención unido operativamente a un transgén, la secuencia de poli(A) se ubica hacia 3' del transgén. En modalidades en las que el vector de ácido nucleico incluye secuencias de ITR primera y segunda y un polinucleótido de la invención unido operativamente a un transgén, la secuencia de poli(A) se ubica hacia 3' del transgén y hacia 5' de la segunda secuencia de ITR.

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico incluye además un elemento regulador postranscripcional de Woodchuck (WPRE, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, el WPRE tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 8 o SEQ ID NO: 9. En modalidades en las que el vector de ácido nucleico incluye un polinucleótido de la invención unido operativamente a un transgén, el WPRE se ubica hacia 3' del transgén. En modalidades en las que el vector de ácido nucleico incluye un polinucleótido de la invención unido operativamente a un transgén y una secuencia de poli (A), el WPRE se ubica hacia 3' del transgén y hacia 5' de la secuencia de poli (A).

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico contiene una secuencia de polinucleótidos que comprende la secuencia de nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10.

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico contiene una secuencia de polinucleótidos que comprende la secuencia de nucleótidos 219-3822 de la SEQ ID NO: 11.

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico de la invención incluye un promotor SLC6A14 (p. ej., el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1) unido operativamente a una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana (proteína ATOH1 humana = RefSeq No. de acceso NP_005163 (SEQ ID NO: 4); secuencia de ARNm = RefSeq No. de acceso NM_005172). En algunas modalidades más específicas, el vector de ácido nucleico de la invención incluye un promotor SLC6A14 de SEQ ID NO:1 operativamente unido a una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana (por ejemplo, una secuencia de polinucleótidos que codifica la SEQ ID NO: 4, tal como la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 5). En algunas modalidades incluso más específicas, el vector de ácido nucleico incluye, en el orden 5' a 3', una primera repetición terminal invertida; un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO:1; una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana unida operativamente al promotor SLC6A14; una secuencia de poliadenilación; y una segunda repetición terminal invertida. En otras modalidades más específicas, el vector de ácido nucleico incluye, en el orden 5' a 3', una primera repetición terminal invertida; un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1; una secuencia de

polinucleótidos que codifica Atoh1 humana unida operativamente al promotor SLC6A14; un WPRE; una secuencia de poliadenilación; y una segunda repetición terminal invertida. En modalidades incluso más específicas, el vector de ácido nucleico incluye los nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10, flanqueados por repeticiones terminales invertidas. En modalidades aún más específicas, el vector de ácido nucleico incluye los nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10, flanqueados por repeticiones terminales invertidas, en el que la repetición terminal invertida 5' tiene al menos 80 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a los nucleótidos 1-130 de la SEQ ID NO: 10; y en el que la repetición terminal invertida 3' tiene al menos un 80 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con respecto a los nucleótidos 3919-4048 de la SEQ ID NO: 10.

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico de la invención incluye un promotor SLC6A14 (p. ej., el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1) unido operativamente a una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina (proteína ATOH1 murina = UniProt P48985 (SEQ ID NO: 6); secuencia de ARNm = RefSeq No. de acceso NM_007500.5). En algunas modalidades más específicas, el vector de ácido nucleico de la invención incluye un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1 unido operativamente a una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina (por ejemplo, una secuencia de polinucleótidos que codifica la SEQ ID NO: 6, tal como la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 7). En algunas modalidades incluso más específicas, el vector de ácido nucleico incluye, en el orden 5' a 3', una primera repetición terminal invertida; un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1; una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina unida operativamente al promotor SLC6A14; una secuencia de poliadenilación; y una segunda repetición terminal invertida. En otras modalidades más específicas, el vector de ácido nucleico incluye, en el orden 5' a 3', una primera repetición terminal invertida; un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1; una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina unida operativamente al promotor SLC6A14; un WPRE; una secuencia de poliadenilación; y una segunda repetición terminal invertida. En modalidades incluso más específicas, el vector de ácido nucleico incluye los nucleótidos 219-3822 de la SEQ ID NO: 11, flanqueados por repeticiones terminales invertidas. En modalidades incluso más específicas, el vector de ácido nucleico incluye los nucleótidos 219-3822 de la SEQ ID NO: 11, flanqueados por repeticiones terminales invertidas, en el que la repetición terminal invertida 5' tiene al menos 80 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con los nucleótidos 1-130 de la SEQ ID NO: 11; y en el que la repetición terminal invertida 3' tienen al menos un 80 % de identidad de secuencia (por

ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con los nucleótidos 3910-4039 de la SEQ ID NO: 11.

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico es un vector viral, plásmido, cósmido o cromosoma artificial. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico es un vector viral seleccionado del grupo que incluye un virus adenoasociado (AAV), un adenovirus y un lentivirus. En algunas modalidades, el vector viral es un vector AAV. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, rh10, rh39, rh43, rh74, Anc80, Anc80L65, DJ/8, DJ/9, 7m8, PHP.B, PHP.eB o PHP.S. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV1. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV9. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV6. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV8. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de Anc80. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de Anc80L65. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de DJ/9. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de 7m8. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV2. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de PHP.B. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV2quad (Y-F). En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de PHP.S. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de PHP.eB. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV3. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV4. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV5. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV7.

Los expertos en la técnica deben entender que la creación de un vector viral de la invención normalmente requiere el uso de un plásmido de la invención junto con plásmidos adicionales que proporcionan los elementos necesarios para el empaquetamiento y la viabilidad viral adecuados (por ejemplo, para AAV, plásmidos que proporcionan el gen rep, gen cap y otros genes de AAV adecuados (por ejemplo, E2A y E4)). La combinación de esos plásmidos en una línea celular productora produce el vector viral. Sin embargo, los expertos en la técnica entenderán que para cualquier par dado de secuencias de repeticiones terminales invertidas en un plásmido de transferencia de la invención que se usa para crear el vector viral, la secuencia correspondiente en el vector viral puede alterarse debido a que las ITR adoptan una orientación «flip» o «flop» durante la recombinación. Por tanto, la secuencia de la ITR en el plásmido de transferencia no es necesariamente la misma secuencia que se encuentra en el vector viral preparado a partir de esta.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que contiene un vector de ácido nucleico de la invención. En algunas modalidades, la composición incluye además un portador, diluyente

o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, la invención proporciona un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1 unida operativamente a un transgén. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene la secuencia de la SEQ ID NO:1.

En algunas modalidades, el transgén es un transgén heterólogo. En algunas modalidades del aspecto anterior, el transgén codifica una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica o una proteína indicadora), un ARNhc, un ASO, una nucleasa (por ejemplo, Cas9, TALEN, ZFN o ARNg) o un microARN. En algunas modalidades, el transgén codifica una proteína.

En algunas modalidades, la proteína es Sox9, Sall2, Camta1, Hey2, Gata2, Hey1, Lass2, Sox10, Gata3, Cux1, Nr2f1, Hes1, Rorb, Jun, Zfp667, Lhx3, Nhlh1, Mxd4, Zmiz1, Myt1, Stat3, Barhl1, Tox, Prox1, Nfia, Thrb, Mycl1, Kdm5a, Creb314, Etv1, Peg3, Bach2, Isl1, Zbtb38, Lbh, Tub, Hmg20, Rest, Zfp827, Aff3, Pknox2, Arid3b, Mlxip, Zfp532, Ikzf2, Sall1, Six2, Sall3, Lin28b, Rfx7, Bdnf, Gfi1, Pou4f3, Myc, Ctnnb1, Sox2, Sox4, Sox11, Tead2, Atoh1 o una variante de Atoh1 (por ejemplo, una variante de Atoh1 que tiene una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A y S328A/S331A/S334). En algunas modalidades, la proteína es Atoh1 (por ejemplo, Atoh1 humana). En algunas modalidades, la proteína Atoh1 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 4 o una variante de esta que tiene una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más) sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas modalidades, no más del 10 % (10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % o menos) de los aminoácidos en la variante de la proteína Atoh1 son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas modalidades, la proteína Atoh1 tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, la proteína Atoh1 está codificada por la secuencia de la SEQ ID NO: 5.

En otro aspecto, la invención proporciona una célula (por ejemplo, una célula de mamífero, por ejemplo, una célula humana, como una VSC) que incluye el polinucleótido o el vector de ácido nucleico de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores. En algunas modalidades, la célula es una VSC de mamífero. En algunas modalidades, la VSC de mamífero es una VSC humana. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para expresar un transgén en una VSC de mamífero poniendo en contacto la VSC de mamífero con el vector de ácido nucleico o la composición

de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores. En algunas modalidades, el transgén se expresa específicamente en VSC (por ejemplo, se expresa en un porcentaje de VSC que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 50 veces, 100 veces, 200 veces, 300- veces, 400 veces, 500 veces o más que el porcentaje de una o más de otras células del oído interno (por ejemplo, células ciliadas) en las que se observa expresión). En algunas modalidades, la VSC de mamífero es una VSC humana.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar disfunción vestibular mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores. En algunas modalidades, la disfunción vestibular es vértigo, mareo, desequilibrio, vestibulopatía bilateral (también conocida como hipofunción vestibular bilateral), oscilopsia o un trastorno del equilibrio. En algunas modalidades, la disfunción vestibular es disfunción vestibular relacionada con la edad, disfunción vestibular relacionada con traumatismo craneoencefálico, disfunción vestibular relacionada con una enfermedad o infección, o disfunción vestibular inducida por fármacos ototóxicos. En algunas modalidades, la disfunción vestibular está asociada con una mutación genética. En algunas modalidades, la disfunción vestibular es disfunción vestibular idiopática.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para inducir o aumentar la regeneración de las células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para inducir o aumentar la proliferación de VSC en un sujeto que lo necesite mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para inducir o aumentar la proliferación de las células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para inducir o aumentar la maduración de las células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores. En algunas modalidades, la célula ciliada vestibular es una célula ciliada vestibular regenerada.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para aumentar la supervivencia de VSC en un sujeto que lo necesite mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del

vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para aumentar la supervivencia de las células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para inducir o aumentar la innervación de las células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores.

En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos anteriores, el sujeto tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar disfunción vestibular (por ejemplo, mareo, vértigo, desequilibrio, vestibulopatía bilateral (hipofunción vestibular bilateral) oscilopsia o un trastorno del equilibrio).

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar vestibulopatía bilateral mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores. En algunas modalidades, la vestibulopatía bilateral es vestibulopatía bilateral inducida por fármacos ototóxicos.

En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos anteriores, el fármaco ototóxico se selecciona del grupo que consiste en aminoglucósidos, fármacos antineoplásicos, ácido etacrínico, furosemida, salicilatos y quinina.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar oscilopsia mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un trastorno del equilibrio (por ejemplo, desequilibrio) mediante la administración al oído interno del sujeto de una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico o composición de cualquiera de los aspectos y modalidades anteriores.

En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos anteriores, el método incluye además evaluar la función vestibular del sujeto antes de administrar el vector de ácido nucleico o composición. En algunas modalidades, el método incluye además evaluar la función vestibular del sujeto después de administrar el vector de ácido nucleico o la composición.

En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos anteriores, el vector de ácido nucleico o la composición se administra localmente. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico o la

composición se administra a un canal semicircular. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico o la composición se administra de forma transtimpánica o intratimpánica (por ejemplo, mediante inyección transtimpánica o intratimpánica). En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico o composición se administra a la perilinfa o endolinfa, tal como a través de la ventana oval, ventana redonda o canal semicircular (por ejemplo, el canal horizontal), por ejemplo, administración a una célula de soporte vestibular. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico o la composición de la invención se administra en la perilinfa. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico o la composición de la invención se administra en la endolinfa. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico o la composición de la invención se administra en o a través de la ventana oval. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico o la composición de la invención se administra a través de la ventana redonda.

En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos anteriores, el vector de ácido nucleico o la composición se administra en una cantidad suficiente para prevenir o reducir la disfunción vestibular, retrasar el desarrollo de la disfunción vestibular, retardar la progresión de la disfunción vestibular, mejorar la función vestibular, aumentar la cantidad de células ciliadas vestibulares, aumentar la maduración de las células ciliadas vestibulares, aumentar la proliferación de las células ciliadas vestibulares, aumentar la regeneración de las células ciliadas vestibulares, aumentar la enervación de las células ciliadas vestibulares, aumentar la proliferación de VSC o aumentar la cantidad de VSC.

En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos anteriores, el sujeto es un ser humano.

En otro aspecto, la invención proporciona un kit que contiene un vector de ácido nucleico de la invención o una composición de la invención.

Definiciones

Como se utiliza en la presente, «administración» hace referencia a proporcionarle o administrarle a un sujeto un agente terapéutico (por ejemplo, un vector de ácido nucleico que contiene un promotor del miembro 14 de la familia 6 de transportadores de soluto (SLC6A14) operativamente unido a un transgén), mediante cualquier vía eficaz. Los ejemplos de vías de administración se describen en la presente a continuación.

Tal como se utiliza en el presente documento, la frase «administrar al oído interno» hace referencia a proporcionar o administrar un agente terapéutico descrito en el presente documento a un sujeto por cualquier vía que permita la transducción de células del oído interno. Los ejemplos de vías de administración al oído interno incluyen la administración a la perilinfa o endolinfa, tal como a la ventana oval, ventana redonda o canal semicircular (por ejemplo, canal horizontal), o a través de estos, o mediante inyección transtimpánica o intratimpánica, por ejemplo, administración al vestíbulo, por ejemplo, a una célula de soporte vestibular.

Como se usa en el presente documento, la expresión «tipo de célula» hace referencia a un grupo de células que comparten un fenotipo que es estadísticamente separable en función de los datos de expresión génica. Por ejemplo, las células de un tipo celular común pueden compartir características estructurales y/o funcionales similares, como patrones de activación de genes y perfiles de presentación de antígenos similares. Las células de un tipo celular común pueden incluir aquellas que se aíslan de un tejido común (por ejemplo, tejido epitelial, tejido nervioso, tejido conectivo o tejido muscular) y/o aquellas que se aíslan de un órgano común, sistema tisular, vaso sanguíneo, u otra estructura y/o región en un organismo.

Tal como se usan en el presente documento, las expresiones «mutación conservadora», «sustitución conservadora» y «sustitución conservadora de aminoácidos» hacen referencia a una sustitución de uno o más aminoácidos por uno o más aminoácidos diferentes que presentan propiedades fisicoquímicas similares, tales como polaridad, carga electrostática y volumen estérico. Estas propiedades se resumen para cada uno de los veinte aminoácidos de origen natural en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas representativas de aminoácidos de origen natural

Aminoácido	Código de 3 letras	Código de 1 letra	Polaridad de cadena lateral	Carácter electrostático a pH fisiológico (7,4)	Volumen estérico [†]
Alanina	Ala	A	no polar	neutro	pequeño
Arginina	Arg	R	polar	catiónico	grande
Asparagina	Asn	N	polar	neutro	intermedio
Ácido aspártico	Asp	D	polar	aniónico	intermedio
Cisteína	Cys	C	no polar	neutro	intermedio
Ácido glutámico	Glu	E	polar	aniónico	intermedio
Glutamina	Gln	Q	polar	neutro	intermedio
Glicina	Gly	G	no polar	neutro	pequeño
Histidina	His	H	polar	Ambas formas neutra y catiónica en equilibrio a pH 7,4	grande
Isoleucina	Ile	I	no polar	neutro	grande
Leucina	Leu	L	no polar	neutro	grande
Lisina	Lys	K	polar	catiónico	grande

Aminoácido	Código de 3 letras	Código de 1 letra	Polaridad de cadena lateral	Carácter electrostático a pH fisiológico (7,4)	Volumen estérico[†]
Metionina	Met	M	no polar	neutro	grande
Fenilalanina	Phe	F	no polar	neutro	grande
Prolina	Pro	P	no polar	neutro	intermedio
Serina	Ser	S	polar	neutro	pequeño
Treonina	Thr	T	polar	neutro	intermedio
Triptófano	Trp	W	no polar	neutro	voluminoso
Tirosina	Tyr	Y	polar	neutro	grande
Valina	Val	V	no polar	neutro	intermedio
[†] en función del volumen en Å ³ : 50-100 es pequeño, 100-150 es intermedio, 150-200 es grande y >200 es voluminoso					

De esta tabla se aprecia que las familias conservadoras de aminoácidos incluyen (i) G, A, V, L e I; (ii) D y E; (iii) C, S y T; (iv) H, K y R; (v) N y Q; y (vi) F, Y y W. Por lo tanto, una mutación o sustitución conservadora es una que sustituye un aminoácido por un miembro de la misma familia de aminoácidos (por ejemplo, una sustitución de Ser por Thr o Lys por Arg).

Como se usan en el presente documento, las expresiones «cantidad eficaz», «cantidad terapéuticamente eficaz» y «cantidad suficiente» de una composición, construcción de vector o vector viral descrito en la presente hacen referencia a una cantidad suficiente para producir, cuando se le administra al sujeto, que incluye un mamífero, por ejemplo, un ser humano, resultados beneficiosos o deseados, incluidos los resultados clínicos y, como tal, una «cantidad eficaz» o sinónimo de esta depende del contexto en el que se está aplicando. Por ejemplo, en el contexto del tratamiento de la disfunción vestibular, es una cantidad de la composición, construcción de vector o vector viral suficiente para lograr una respuesta al tratamiento en comparación con la respuesta obtenida sin la administración de la composición, construcción de vector o vector viral. La cantidad de una composición dada descrita en este documento que corresponderá a dicha cantidad variará dependiendo de varios factores, tales como el agente dado, la formulación farmacéutica, la vía de administración, el tipo de enfermedad o trastorno, la identidad del sujeto (por ejemplo, edad, sexo, peso) o el hospedador en tratamiento y similares, pero, no obstante, un experto en la técnica puede determinarla de forma habitual. Además, como se usa en la presente, una «cantidad terapéuticamente eficaz» de una composición, construcción de vector o vector viral de la presente descripción es una cantidad que produce un resultado beneficioso o deseado en un sujeto en comparación con un control. Como se define en este documento, una cantidad

terapéuticamente eficaz de una composición, construcción de vector o vector viral de la presente descripción puede ser determinada fácilmente por un experto en la técnica mediante métodos habituales conocidos en la técnica. El régimen de dosificación se puede ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima.

5 Como se usa en este documento, el término «endógeno» describe una molécula (por ejemplo, un polipéptido, ácido nucleico o cofactor) que se encuentra naturalmente en un organismo particular (por ejemplo, un ser humano) o en una ubicación particular dentro de un organismo (por ejemplo, un órgano, un tejido o una célula, tal como una célula humana, por ejemplo, una célula de soporte vestibular humana).

10 Como se usa en este documento, el término «expresar» se refiere a uno o más de los siguientes eventos: (1) producción de una plantilla de ARN a partir de una secuencia de ADN (por ejemplo, por transcripción); (2) procesamiento de una transcripción de ARN (por ejemplo, mediante corte y empalme, edición, formación de casquete 5' y/o procesamiento del extremo 3'); (3) traducción de un ARN en un polipéptido o proteína; y (4) modificación postraduccional de un polipéptido o proteína.

15 Como se usa en la presente, el término «exógeno» describe una molécula (por ejemplo, un polipéptido, ácido nucleico o cofactor) que no se encuentra naturalmente en un organismo en particular (por ejemplo, un ser humano) o en una ubicación en particular dentro de un organismo (por ejemplo, un órgano, un tejido o una célula, tal como una célula humana, por ejemplo, una célula de soporte vestibular humana). Los materiales exógenos incluyen aquellos que se proporcionan desde una fuente externa a
20 un organismo o a materia cultivada extraída de este.

 Como se usa en este documento, el término «exón» hace referencia a una región dentro de la región codificante de un gen, cuya secuencia de nucleótidos determina la secuencia de aminoácidos de la proteína correspondiente. El término exón también hace referencia a la región correspondiente del ARN transcrito a partir de un gen. Los exones se transcriben en pre-ARNm y pueden incluirse en el
25 ARNm maduro dependiendo del corte y empalme alternativo del gen. Los exones que se incluyen en el ARNm maduro después del procesamiento se traducen en proteína, en donde la secuencia del exón determina la composición de aminoácidos de la proteína.

 Como se usa en el presente documento, el término «heterólogo» hace referencia a una combinación de elementos que no tiene origen natural. Por ejemplo, un transgén heterólogo hace
30 referencia a un transgén que no es expresado naturalmente por el promotor al que está operativamente unido.

 Como se usan en este documento, los términos «aumentar» y «disminuir» se refieren a la modulación que tiene como resultado, respectivamente, cantidades mayores o menores de función, expresión o actividad de un parámetro con respecto a una referencia. Por ejemplo, después de la

administración de una composición en un método descrito en este documento, la cantidad de un marcador de un parámetro (por ejemplo, expresión del transgén) como se describe en este documento puede aumentar o disminuir en un sujeto en al menos 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 98 % o más en relación con la cantidad de marcador antes de la administración. Generalmente, la métrica se mide después de la administración en un momento en que la administración ha tenido el efecto mencionado, por ejemplo, al menos una semana, un mes, 3 meses o 6 meses, después de que ha comenzado un régimen de tratamiento.

Como se usa en este documento, «localmente» o «administración local» significa la administración en un sitio particular del cuerpo destinada a un efecto local y no a un efecto sistémico. Ejemplos de administración local son la administración epicutánea, inhalatoria, intraarticular, intratecal, intravaginal, intravítrea, intrauterina, intralesional, administración en los ganglios linfáticos, administración intratumoral, administración en el oído medio o interno y administración en una membrana mucosa del sujeto, en donde se pretende que la administración tenga un efecto local y no sistémico.

Tal como se usa en el presente documento, el término «unido/a operativamente» hace referencia a una primera molécula unida a una segunda molécula, en donde las moléculas están dispuestas de manera que la primera molécula afecta la función de la segunda molécula. Las dos moléculas pueden o no ser parte de una sola molécula contigua y pueden o no ser adyacentes. Por ejemplo, un promotor se une operativamente a una molécula de polinucleótido transcribible si el promotor modula la transcripción de la molécula de polinucleótido transcribible de interés en una célula. Además, dos partes de un elemento regulador de la transcripción se unen operativamente entre sí si se unen de manera que la funcionalidad activadora de la transcripción de una parte no se vea afectada negativamente por la presencia de la otra parte. Dos elementos reguladores de la transcripción se pueden unir operativamente entre sí por medio de un ácido nucleico conector (por ejemplo, un ácido nucleico no codificante intermedio) o se pueden unir operativamente entre sí sin la presencia de nucleótidos intermedios.

Como se usa en este documento, el término «plásmido» se refiere a una molécula de ADN bicatenario circular extracromosómico en la que se pueden ligar segmentos de ADN adicionales. Un plásmido es un tipo de vector, una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al que se ha unido. Determinados plásmidos pueden replicarse de forma autónoma en una célula hospedadora en la que se introducen (por ejemplo, plásmidos bacterianos que tienen un origen bacteriano de replicación y plásmidos episómicos de mamíferos). Otros vectores (por ejemplo, vectores de mamífero no episómicos) pueden integrarse en el genoma de una célula hospedadora luego de la introducción en la célula hospedadora y, de esa forma, se replican junto con el genoma hospedador.

Determinados plásmidos pueden dirigir la expresión de genes a los que se encuentran unidos de forma operativa.

Como se usa en este documento, el término «polinucleótido» se refiere a un polímero de nucleósidos. Normalmente, un polinucleótido está compuesto de nucleósidos que se encuentran naturalmente en el ADN o ARN (por ejemplo, adenosina, timidina, guanosina, citidina, uridina, desoxiadenosina, desoxitimidina, desoxiguanosina y desoxicitidina) unidos por enlaces fosfodiéster. El término abarca moléculas que comprenden nucleósidos o análogos de nucleósidos que contienen bases modificadas química o biológicamente, cadenas principales modificadas, etc., se encuentren o no en ácidos nucleicos de origen natural, y tales moléculas pueden preferirse para determinadas aplicaciones. Cuando la presente solicitud haga referencia a un polinucleótido, se entiende que se proporcionan tanto ADN, ARN y, en cada caso, formas monocatenarias y bicatenarias (y complementos de cada molécula monocatenaria). «Secuencia de polinucleótidos», como se usa en este documento, puede hacer referencia al material de polinucleótido en sí mismo y/o a la información de la secuencia (es decir, la sucesión de letras utilizadas como abreviaturas de bases) que caracteriza bioquímicamente a un ácido nucleico específico. Una secuencia de polinucleótidos presentada en este documento se presenta en una dirección de 5' a 3' a menos que se indique lo contrario.

Como se usa en el presente documento, el término «promotor» hace referencia a un sitio de reconocimiento en el ADN que está unido por una ARN polimerasa. La polimerasa dirige la transcripción del transgén.

«Porcentaje (%) de identidad de secuencia» con respecto a una secuencia de polinucleótidos o polipéptidos de referencia se define como el porcentaje de ácidos nucleicos o aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los ácidos nucleicos o aminoácidos en la secuencia de polinucleótidos o polipéptidos de referencia, después de alinear las secuencias e introducir espacios, si fuera necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia. La alineación a efectos de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos o ácidos nucleicos puede lograrse de diversas maneras que se encuentran dentro de las capacidades del experto en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de software informático disponible para el público, tal como el software BLAST, BLAST-2, o Megalign. Los expertos en la técnica pueden determinar parámetros adecuados para alinear las secuencias, que incluyen cualquier algoritmo necesario para lograr la máxima alineación en la longitud completa de las secuencias comparadas. Por ejemplo, los valores porcentuales de identidad de secuencia pueden generarse utilizando el programa informático de comparación de secuencias BLAST. A modo ilustrativo, el porcentaje de identidad de secuencia de una secuencia de ácidos nucleicos o aminoácidos A dada con respecto a, con o contra una secuencia de ácidos nucleicos o aminoácidos B dada (que se puede expresar de forma alternativa como una secuencia de ácidos nucleicos o

aminoácidos A dada que tiene un determinado porcentaje de identidad de secuencia con respecto a, con o contra una secuencia de ácidos nucleicos o aminoácidos B dada) se calcula como se indica a continuación:

100 multiplicado por (la fracción X/Y)

- 5 donde X es la cantidad de nucleótidos o aminoácidos calificados como coincidencias idénticas mediante un programa de alineación de secuencias (por ejemplo, BLAST) en la alineación de ese programa de A y B, y donde Y es la cantidad total de ácidos nucleicos en B. Se apreciará que cuando la longitud de la secuencia de ácidos nucleicos o aminoácidos A no sea igual a la longitud de la secuencia de ácidos nucleicos o aminoácidos B, el porcentaje de identidad de secuencia de A con respecto a B no será igual
10 al porcentaje de identidad de secuencia de B con respecto a A.

- Como se usa en este documento, la expresión «composición farmacéutica» hace referencia a una mezcla que contiene un agente terapéutico, opcionalmente en combinación con uno o más excipientes, diluyentes y/o portadores farmacéuticamente aceptables, para ser administrados a un sujeto, tal como un mamífero, por ejemplo, un ser humano, con el fin de prevenir, tratar o controlar una
15 enfermedad o afección particular que afecta o puede afectar al sujeto.

- Tal como se usa en la presente, la expresión «farmacéuticamente aceptable» hace referencia a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son adecuados para entrar en contacto con los tejidos de un sujeto, tal como un mamífero (por ejemplo, un ser humano) sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica y otros problemas o complicaciones, con una relación
20 beneficio/riesgo correspondiente razonable.

- Como se usa en este documento, la expresión «elemento regulador de la transcripción» hace referencia a un ácido nucleico que controla, al menos en parte, la transcripción de un gen de interés. Los elementos reguladores de la transcripción pueden incluir promotores, potenciadores y otros ácidos nucleicos (por ejemplo, señales de poliadenilación) que controlan o ayudan a controlar la transcripción
25 génica. Se describen ejemplos de elementos reguladores de la transcripción, por ejemplo, en Lorence, Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Humana Press, Nueva York, NY, 2012).

- Como se usa en la presente, el término «transfección» hace referencia a cualquiera de una amplia variedad de técnicas comúnmente usadas para la introducción de ADN exógeno en una célula hospedadora procariota o eucariota, por ejemplo, electroporación, lipofección, precipitación con fosfato
30 de calcio, transfección con DEAE-dextrano, nucleofección, compresión-poración, sonoporación, transfección óptica, magnetofección, impalefacción y similares.

Como se usan en este documento, los términos «sujeto» y «paciente» hacen referencia a un animal (por ejemplo, un mamífero, como un ser humano). Un sujeto a ser tratado de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento puede ser uno a quien se le haya diagnosticado disfunción

vestibular (por ejemplo, mareos, vértigo o desequilibrio) o uno en riesgo de desarrollar estas afecciones. El diagnóstico puede realizarse mediante cualquier método o técnica conocida en la técnica. Un experto en la técnica comprenderá que un sujeto a ser tratado de acuerdo con la presente descripción puede haber sido sometido a pruebas estándar o puede haber sido identificado, sin examen, como alguien en riesgo debido a la presencia de uno o más factores de riesgo asociados con la enfermedad o afección.

Como se usa en el presente documento, los términos «transducción» y «transducir» hacen referencia a un método para introducir una construcción de vector o una parte de esta en una célula. Cuando la construcción del vector está contenida en un vector viral tal como, por ejemplo, un vector de AAV, la transducción hace referencia a la infección viral de la célula y la posterior transferencia e integración de la construcción del vector o parte de este en el genoma celular.

Como se usa en este documento, «tratamiento» y «tratar» en referencia a una enfermedad o afección, se refieren a un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, por ejemplo, resultados clínicos. Los resultados beneficiosos o deseados pueden incluir, de modo no taxativa, alivio o mejora de uno o más síntomas o afecciones; disminución del alcance de la enfermedad o afección; estado estabilizado (es decir, sin empeoramiento) de la enfermedad, trastorno o afección; prevenir la propagación de la enfermedad o afección; retrasar o ralentizar el progreso de la enfermedad o afección; mejorar o paliar la enfermedad o afección; y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. «Mejorar» o «paliar» una enfermedad o afección significa que el alcance y/o las manifestaciones clínicas indeseables de la enfermedad, trastorno o afección se reducen y/o el transcurso temporal de la progresión se ralentiza o prolonga, en comparación con el alcance o transcurso temporal en ausencia de tratamiento. «Tratamiento» también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya presentan la afección o el trastorno, así como aquellos propensos a presentar la afección o el trastorno o aquellos en los que la afección o el trastorno ha de prevenirse.

Como se usa en este documento, el término «vector» incluye un vector de ácido nucleico, por ejemplo, un vector de ADN, tal como un plásmido, cósmido o cromosoma artificial, un vector de ARN, un virus o cualquier otro replicón adecuado (por ejemplo, vector viral). Se ha desarrollado una variedad de vectores para la administración de polinucleótidos que codifican proteínas exógenas en una célula procariota o eucariota. Ejemplos de tales vectores de expresión se describen, por ejemplo, en Gellissen, Production of Recombinant Proteins: Novel Microbial and Eukaryotic Expression Systems (John Wiley & Sons, Marblehead, MA, 2006). Los vectores de expresión adecuados para usar con las composiciones y métodos descritos en la presente contienen una secuencia de polinucleótidos, así como, por ejemplo, elementos de secuencia adicionales usados para la expresión de proteínas y/o la integración de estas secuencias de polinucleótidos en el genoma de una célula de mamífero. Determinados vectores que

pueden usarse para la expresión de transgenes como se describe en este documento incluyen vectores que contienen secuencias reguladoras, tales como regiones promotoras y potenciadoras, que dirigen la transcripción génica. Otros vectores útiles para la expresión de un transgén contienen secuencias de polinucleótidos que mejoran la tasa de traducción del transgén o mejoran la estabilidad o exportación nuclear del ARNm que resulta de la transcripción génica. Estos elementos de secuencia incluyen, por ejemplo, regiones no traducidas 5' y 3' y un sitio de señal de poliadenilación con el fin de dirigir la transcripción eficiente del gen transportado en el vector de expresión. Los vectores de expresión adecuados para usar con las composiciones y métodos descritos en este documento también pueden contener un polinucleótido que codifica un marcador para la selección de células que contienen dicho vector. Los ejemplos de un marcador adecuado incluyen genes que codifican resistencia a antibióticos, tales como ampicilina, cloranfenicol, kanamicina o nourseotricina.

Como se usan en este documento, las expresiones «célula de soporte vestibular» y «VSC» hacen referencia a un grupo de células epiteliales especializadas en el sistema vestibular del oído interno que están involucradas en el desarrollo, supervivencia, función, muerte y fagocitosis de las células ciliadas vestibulares. Las VSC brindan soporte estructural a las células ciliadas vestibulares al anclarlas en el epitelio sensorial y liberar factores neurotróficos importantes para la enervación de las células ciliadas.

Como se usan en este documento, las expresiones «expresión específica de células de soporte vestibular» y «expresión específica de VSC» hacen referencia a la producción de una transcripción de ARN o polipéptido principalmente dentro de las células de soporte vestibulares en comparación con otros tipos de células del oído interno (por ejemplo, células ciliadas vestibulares, células ciliadas cocleares, células de soporte cocleares, glía u otros tipos de células del oído interno). La expresión de VSC de un transgén se puede confirmar comparando la expresión del transgén (por ejemplo, expresión de ARN o proteína) entre varios tipos de células del oído interno (por ejemplo, células VSC frente a células no VSC) utilizando cualquier técnica estándar (por ejemplo, RT PCR cuantitativa, inmunohistoquímica, análisis de transferencia Western o medición de la fluorescencia de un indicador (por ejemplo, GFP) unido operativamente a un promotor). Un promotor que induce expresión específica de VSC es un promotor que (i) induce la expresión (por ejemplo, expresión de ARN o proteína) de un transgén al que está operativamente unido que es al menos un 50 % mayor (por ejemplo, 50 %, 75 %, 100 %, 125 %, 150 %, 175 %, 200 % mayor o más) en VSC, o (ii) induce la expresión de un transgén al que está operativamente unido que es al menos 2 veces mayor (por ejemplo, 5 veces, 10 veces, 50 veces, 100 veces, 200 veces, 300 veces, 400 veces, 500 veces mayor o más) en VSC, cada uno en comparación con al menos 3 (por ejemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) de los siguientes tipos de células del oído interno: células ganglionares vestibulares, células no sensoriales del epitelio de los órganos vestibulares,

células oscuras de los órganos vestibulares, células mesenquimatosas de los órganos vestibulares, células ganglionares espirales, células fronterizas, células de la falange interna, células del pilar interno, células del pilar externo, células de Deiter de la primera fila, células de Deiter de la segunda fila, células de Deiter de la tercera, células de Hensen, células de Claudius, células del surco interno, células del surco externo, células de prominencia en espiral, células de la raíz, células interdentes, células basales de la estría vascular, células intermedias de la estría vascular, células marginales de la estría vascular, células ciliadas internas, células ciliadas externas, células ciliadas vestibulares y células de Schwann.

Como se usa en este documento, la expresión «de tipo salvaje» hace referencia a un genotipo con la frecuencia más alta para un gen particular en un organismo dado.

10 **Breve descripción de las figuras:**

Las Figuras 1A-1C son una serie de imágenes fluorescentes confocales de un solo plano que comparan la expresión de GFP nuclear en utrículos de ratón adulto transducidos con vectores virales que codifican GFP nuclear bajo el control de los promotores SLC6A14v2 (SEQ ID NO: 3; fila superior) o SLC6A14v3 (SEQ ID NO: 1; fila inferior). Los núcleos de las células de soporte se inmunomarcaron con anticuerpos generados contra la proteína Factor de transcripción SRY-Box 2 (Sox2), y los núcleos de las células ciliadas se inmunomarcaron con anticuerpos generados contra la proteína POU Clase 4 Homeobox 3 (Pou4f3). La Figura 1A muestra la capa nuclear de células de soporte (SC), la Figura 1B muestra la capa nuclear de células ciliadas (HC) y la Figura 1C muestra la capa mesenquimatosas.

Las Figuras 2A-2D son una serie de gráficos que muestran la cuantificación de la expresión de GFP nuclear en células de soporte (Figura 2A), la intensidad de la expresión de GFP nuclear en células de soporte (Figura 2B), la cuantificación de la expresión de GFP nuclear en células ciliadas (Figura 2C) y la cuantificación en todas las células distintas de las células de soporte (Figura 2D) en utrículos de ratón adulto transducidos con vectores virales que codifican GFP nuclear bajo el control de los promotores SLC6A14v2 (SEQ ID NO: 3) o SLC6A14v3 (SEQ ID NO: 1).

La Figura 3 es un mapa del plásmido P530.

La Figura 4 es un mapa del plásmido P919.

La Figura 5 es un mapa del plásmido P990.

La Figura 6 es un mapa del plásmido P1071.

30 **Descripción detallada**

En el presente documento se describen composiciones y métodos para inducir la expresión transgénica específicamente en células de soporte vestibular (VSC) del oído interno. La invención presenta polinucleótidos que contienen regiones del promotor del miembro 14 de la familia 6 de transportadores de soluto (SLC6A14) que son capaces de expresar un transgén específicamente en

VSC. La invención también presenta vectores de ácido nucleico que contienen dichos promotores unidos operativamente a polinucleótidos que codifican polipéptidos o moléculas de ARN. Las composiciones y métodos descritos en este documento se pueden usar para expresar polinucleótidos que codifican proteínas (por ejemplo, proteínas terapéuticas, proteínas indicadoras u otras proteínas de interés) o moléculas de ARN (por ejemplo, moléculas de ARN inhibidoras) en las VSC, que proporcionan soporte estructural y trófico a las células ciliadas vestibulares y pueden hacerse diferenciar en células ciliadas y, por lo tanto, las composiciones descritas en este documento se puede administrar a un sujeto (tal como un sujeto mamífero, por ejemplo, un ser humano) para tratar trastornos causados por la disfunción de las células ciliadas vestibulares, tales como el vértigo, mareos, desequilibrio, vestibulopatía bilateral, oscilopsia o un trastorno del equilibrio.

Células de soporte

Las células de soporte del sistema vestibular son células epiteliales especializadas que residen en el oído interno. Las VSC constituyen una clase de células anatómica y morfológicamente homogénea que median las actividades estructurales, de desarrollo y tróficas críticas necesarias para la función vestibular normal. Los VSC están ubicados dentro del utrículo, sáculo y canales semicirculares del oído interno y actúan como anclas estructurales para las células ciliadas vestibulares, las células sensoriales primarias del sistema vestibular periférico involucradas en la sensación de movimiento que contribuye a una sensación de equilibrio y de orientación espacial. La formación de sinapsis en las células ciliadas del nervio vestibulococlear está mediada por factores neurotróficos secretados por las VSC, lo que favorece el establecimiento y mantenimiento de la función vestibular adecuada. Además, las VSC actúan como mediadores importantes de la supervivencia, muerte y eliminación fagocítica de las células ciliadas vestibulares en virtud de su control de la señalización del calcio extracelular e intracelular y la formación de estructuras multicelulares fagocíticas llamadas fagosomas que mantienen la integridad del epitelio sensorial al eliminar las células ciliadas muertas o moribundas. El daño a las células ciliadas vestibulares y las mutaciones genéticas que alteran la función de las células ciliadas vestibulares están implicados en la disfunción vestibular, tal como la pérdida del equilibrio y vértigo (por ejemplo, mareos). La terapia génica ha surgido recientemente como un enfoque terapéutico atractivo para tratar la disfunción vestibular; sin embargo, el campo carece de métodos para dirigir los vectores de ácido nucleico utilizados en la terapia génica a las células de soporte del sistema vestibular.

La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que SLC6A14 se expresa específicamente en las VSC del oído interno. El SLC6A14 es un gen que codifica un transportador de neurotransmisores dependiente de sodio y cloruro capaz de transportar aminoácidos tanto neutros como cargados positivamente de una manera dependiente de sodio y cloruro que no se había identificado

previamente como expresado en el oído interno. Las secuencias promotoras de SLC6A14 descritas en el presente documento inducen la expresión génica de una manera específica de VSC en el oído interno. Las composiciones y métodos descritos en este documento pueden usarse, por tanto, para expresar un gen de interés en las VSC (por ejemplo, un gen implicado en el desarrollo de las células ciliadas vestibulares, especificación del destino de las células ciliadas vestibulares, regeneración de las células ciliadas vestibulares, proliferación de células ciliadas vestibulares y/o VSC, enervación de células ciliadas vestibulares o maduración de células ciliadas vestibulares, o un gen que se sabe que está alterado, por ejemplo, mutado, en sujetos con disfunción vestibular) para tratar sujetos que tienen o están en riesgo de desarrollar disfunción vestibular (por ejemplo, vértigo, mareos, o pérdida de equilibrio). La expresión génica específica del tipo celular puede mejorar la seguridad y eficacia de la terapia génica al reducir la toxicidad asociada con la expresión fuera del objetivo.

Las composiciones y métodos descritos en este documento incluyen un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1 que es capaz de expresar un transgén en VSC específicamente, o variantes de este, como secuencias de ácido nucleico que tienen al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1.

La secuencia de ácido nucleico que antecede se proporciona en la Tabla 2, a continuación.

Tabla 2. Secuencias promotoras de SLC6A14

SEQ ID NO:	Descripción de la secuencia promotora	Secuencia promotora
1	SLC6A14v3 (promotor murino)	ATACACTTATGTATATGTGCGATGTCAGTGTGTGTGCATATAAA GTCCCAAACAAGCCTGTATGATATTGACCAACAAGGTCAAGGC AAAGTTTTTGATACTTTTCAGGTCACAACCTCTCCGCATCCCTCTC TACTTTGCTCTATCTGCCTGAACTCCTGAGGACATGTTTCTACT GCAAATGGAAAATCCTTGTCAGCCAGTGAGGAACAAAGGGACT ATACATAGATGAAAACCTTGCTCTCTGCTGGTTCCCTTTGTTTGTA TGAATTTATACAATTTGGTAAACTGCCACCATGTCTTACATGGA CAGATTGAGTGATGATTCTTTGAATTTTGGATGAAGAGGCGCTG CACTGGTGATCGGAATTGCAGTCTTTCCTCTGTAGGTAACCTGG CTTGTTTCCTTACAGTTTACTTTCTAGGCCTCGCCTTTCTCACAG AGTGAAGTCCTTTGTTAAGGTTCTGAATTTCCCATAAACCTGCTC AATAATTTGTTTGTGTTTGGCTTCTTTGAAATACTACACAAAGCA

SEQ ID NO:	Descripción de la secuencia promotora	Secuencia promotora
		ATCCTTGTAAGGCAAACTATTCCGAAGGCTGAGAAAGGAG CTCCAGGACATAGATTCAAAGTCGCTCTTTTCAGGTAGAGACAG CTGGGTAATCTTATCTTAAGTGGCTACATTTCAAGGTTCCCAATT CAGGGGCTTTCCCCTCTGGGAGCAGCATTCTCTCCGGGTGATG AAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAACTTTAGAAAACCGGAGG GCCCAGAGCAGTCTGGTCTGTTACAAAAATTATAGCAACAAA ATAAGCCCGGCGGATTGGGTCTCTCCTACCTCCAGCACCAGGG GAGATCAGCACTTGGCCCCAGGACAGAGACCTGAGAAGTGAG GTTTGGAAGAAGCCAGGAATCCAGGAAAGGAGGCAAGATTGCT AAGGCACCGGCACAGCTCTGAGTCAAAGTTGTCAGTCTTCTTT GGCTCTGGCTGCGGAGCTCAATTGCTCACAGCCCTGCCCTTTC CTAGGGCTGGGGCAAGGAATTGCTACATTCAGGATTACCTGGG GGAAAAACCAGAGGCTTGCTTTGGTCCCTTCCGGTAATTGAAA GGACTGGCCGTCAGCGAGGGGGAGGAGAGAGCTTCCCTCCAT AAATGGTCCCACCCCTGGGCAAGGTGGCTCACTTTGGCAGGTA GCAACCGGGGAGTGTGCACCTGCCACCAGTCAAGCTCAGCCA GACTGTGAGAAGAGGAGAGGGCGAGGCACACCAAGGGATCCAG TGAACCaacGACAGATTGAAGTGCCCGAACTTCTTCAAGTGCAG ACAGAAGGAGGTAGGGTTCTGGAAGTTTCTGGTGGTGTAGGGG AGTCAGGAAGGGAAAAACAAGGAGGGAGAGTGAGTCTTAGTTTT TTGCTTTCTGTAGCTGTTCTTATTTTGCATATTTCTTTCTTTCA ACTTTTTCAAGTATGCCTGATACGTTGTTCTCACGAAGTTGAC GTGAAAAACAACCTTTCCTGCTGGTAGTTAGGAACTTAGGAGCA CCTCAACCTGTACCTTGAGAACACCCAGAGAATGCTGCTCTTTG TCGTTCTCTATACCGTGTTTCATATGCTGCAGGGAAATGCAAAGA ATGTACTGTCCTTATCTGACCCTGGGAGCATTCCATAGTCAAGC AGCAGCTATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCCAAGGTGTAAC AGAAAAGGAAAATGTTGATATTTTCTTGTTTAGAAAGTGACAGC TTCATCCGAGAAC
3	SLC6A14v2 (promotor humano)	AAGCTGGGATGTTTCCTCATAGTTTACTTTCTAGGCCTCATCTTT CTTACAGAGTGTGCTCCTTTGTTAAGGTTAGAATTTCCCATAAA

SEQ ID NO:	Descripción de la secuencia promotora	Secuencia promotora
		CCTGCTCAATAATTTGTTTGTGTTTGGCTTCTTTGAAATACTACA CAAAGCAATCCCTGTAAAAGGCAAAGCTGTCCTGAAGGCTGAG AAAGGAGCCTGAGACATAGGCTCCAAGTTGCTCTTTTCAGGCA GAGCCAGCTGGGTAATCTTATCTCAGATGGCTGCTTTTCAAGGT GCCCAATTCAGGGGCTTTTCCTCTGGGAGCAGCATTGCCCCA GGGAATCAAGTGCTTTCTAGTCAGGGGCAAACTTTGGGAAAT CTGAGGACCCAGGGTGGTATGGTCTGTTTCAGGAGAATTTTGGG GAACAGAATGGCCCCCTTCTCCCTCCAGCACTTGTACAGATCA GCACTTGGCCCCCAGAACAGAGACCAGACTGAGAGGCGAGGTT AGGAGGAAACAGGGGACCCAGGAAAGGCGGCTAGATTGCAAA CGTACCTACACAGCTCTGAGTCAAAGGCTGTCAGTCATCTCGG CTCAGACTGCTCTGCTCTCCAGCAGCCCAGCCCTTTCCCAGGG CTGGGGCAGGAGATTGCTACATGTAGGCTTATCTGGGGAAAAA CCAGAGCCTCACTTTAGTCCCTTCCGGTAATTGACACTACTGGA CACCCAGGAGGGGGAGGAGAGAGCTTCTCTTCATAAATGTTCC CACCCCTGGGCAAGGTGGCTCACTCTGGCAGGTAGGAACAGG GGAGAGTGCACCTGCTACCAGTCAAGCTCAGCCAGACTGCAAG AGGAGGCGAGGCG

Expresión de ácidos nucleicos exógenos en células de mamíferos

Las composiciones y métodos descritos en este documento se pueden usar para inducir o aumentar la expresión de proteínas codificadas por genes de interés (por ejemplo, la forma de tipo salvaje de un gen implicado en la disfunción vestibular, o un gen implicado en el desarrollo de las células ciliadas vestibulares, especificación del destino de las células ciliadas vestibulares, regeneración de células ciliadas vestibulares, proliferación de células ciliadas vestibulares y/o de VSC, enervación de células ciliadas vestibulares o maduración de células ciliadas vestibulares) en las VSC mediante la administración de un vector de ácido nucleico que contiene un promotor SLC6A14 (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1) unido operativamente a una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de interés. Se ha establecido una amplia gama de métodos para la

administración de proteínas a células de mamíferos y para la expresión estable de genes que codifican proteínas en células de mamíferos. Las proteínas que se pueden expresar en relación con las composiciones descritas en este documento (por ejemplo, cuando el transgén que codifica la proteína está operativamente unido a un promotor SLC6A14 (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO:1) son proteínas que se expresan en VSC sanas (por ejemplo, proteínas que juegan un papel en el desarrollo de las células ciliadas vestibulares, especificación del destino de las células ciliadas vestibulares, regeneración de las células ciliadas vestibulares, proliferación de células ciliadas vestibulares y/o de VSC, enervación de células ciliadas vestibulares o maduración de células ciliadas vestibulares, o proteínas que son deficientes en sujetos con disfunción vestibular) u otras proteínas de interés. Las proteínas que pueden expresarse en VSC mediante el uso de las composiciones y métodos descritos en la presente incluyen el factor de transcripción 2 tipo Spalt (Sall2), activador de transcripción 1 de unión a Calmodulina (Camta1), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes con motivo YRPW 2 (Hey2), proteína de unión a Gata 2 (Gata2), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes con motivo YRPW 1 (Hey1), ceramida sintasa 2 (Lass2), SRY caja 10 (Sox10), proteína 3 de unión a GATA (Gata3), homeobox 1 tipo Cut (Cux1), miembro del grupo F de la subfamilia 2 de receptores nucleares (Nr2f1), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes (Hes1), receptor B huérfano relacionado con RAR (Rorb), subunidad del factor de transcripción AP-1 del protooncogén Jun (Jun), proteína 667 con dedo de zinc (Zfp667), homeobox LIM 3 (Lhx3), hélice-bucle-hélice nesciente 1 (Nhlh1), proteína de dimerización MAX 4 (Mxd4), proteína 1 de tipo que contiene MIZ con dedos de zinc (Zmiz1), factor de transcripción de mielina 1 (Myt1), transductor de señal y activador de transcripción 3 (Stat3), homeobox 1 de tipo BarH (Barhl1), caja de grupo de alta movilidad asociada a la selección de timocitos (Tox), Homeobox prospero 1 (Prox1), factor nuclear I A (Nfia), receptor beta de la hormona tiroidea (Thrb), factor de transcripción BHLH del protooncogén MYCL (Mycl1), lisina demetilasa 5A (Kdm5a), proteína 3 de unión al elemento de respuesta a CAMP de tipo 4 (Creb3l4), variante 1 de ETS (Etv1), 3 paternalmente expresada (Peg3), dominio BTB y homólogo de CNC 2 (Bach2), homeobox ISL LIM 1 (Isl1), 38 que contiene dedos de zinc y dominio BTB (Zbtb38), desarrollo de las extremidades y el corazón (Lbh), factor de transcripción bipartito Tubby (Tub), Ubiquitina C (Hmg20), factor de transcripción de silenciamiento de RE1 (Rest), proteína 827 con dedos de zinc (Zfp827), miembro 3 de la familia AF4/FMR2 (Aff3), homeobox 2 de PBX/anudada 1 (Pknx2), dominio de interacción rico en AT de 3B (Arid3b), proteína de interacción MLX (Mlxip), proteína con dedos de zinc (Zfp532), dedos de zinc 2 de la familia IKAROS (Ikzf2), factor de transcripción 1 tipo Spalt (Sall1), SIX Homeobox 2 (Six2), factor de transcripción 3 tipo Spalt (Sall3), homólogo B de Lin-28 (Lin28b), factor

regulador X7 (Rfx7), factor neurotrófico derivado del cerebro (Bdnf), represor transcripcional del factor de crecimiento independiente 1 (Gfi1), POU clase 4 homeobox 3 (Pou4f3), factor de transcripción BHLH del protooncogén MYC (Myc), β -catenina (Ctnnb1), SRY-Box 2 (Sox2), SRY-Box 4 (Sox4), SRY-Box 11 (Sox11), factor de transcripción 2 del dominio TEA (Tea2), factor de transcripción BHLH atonal 1 (Atoh1), y variantes de Atoh1 que contienen sustituciones en los aminoácidos 328, 331 y/o 334 (por ejemplo, S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A y S328A/S331A/S334). Los polinucleótidos (por ejemplo, promotores SLC6A14) descritos en el presente documento también se pueden usar para expresar una molécula de ARN inhibidora (por ejemplo, un ARN de horquilla corta (ARNhc), un oligonucleótido antisentido (ASO)), una nucleasa (por ejemplo, proteína 9 asociada a CRISPR (Cas9), nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN), nucleasa con dedo de zinc (ZFN) o ARN guía (ARNg)), o un microARN en VSC.

En algunas modalidades, la proteína que se expresa en VSC mediante las composiciones y métodos descritos en la presente es Atoh1. Un promotor SLC6A14 (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1) se puede unir operativamente a una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 de tipo salvaje, o un variante de esta, como una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la secuencia de aminoácidos de Atoh1 de mamífero de tipo salvaje (por ejemplo, ser humano o ratón) (por ejemplo, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 6). Los ejemplos de las secuencias de aminoácidos y polinucleótidos de Atoh1 se enumeran en la Tabla 3, a continuación.

En algunas modalidades, la secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína Atoh1 codifica una secuencia de aminoácidos que contiene una o más sustituciones conservadoras de aminoácidos con respecto a la SEQ ID NO: 4 (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más sustituciones conservadoras de aminoácidos), siempre que el análogo de Atoh1 codificado conserve la función terapéutica de Atoh1 de tipo salvaje (por ejemplo, la capacidad de promover el desarrollo de las células ciliadas). No más del 10% de los aminoácidos en la proteína Atoh1 pueden reemplazarse con sustituciones conservadoras de aminoácidos. En algunas modalidades, la secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 es cualquier secuencia de polinucleótidos que, por redundancia del código genético, codifica la SEQ ID NO: 4. La secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 puede tener optimización parcial o total de codones para su expresión (p. ej., en VSC humanas). Atoh1 puede estar codificado por un polinucleótido que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 5. La proteína Atoh1 puede ser una proteína Atoh1 humana o puede ser un homólogo de la proteína Atoh1

humana de otra especie de mamífero (por ejemplo, ratón, rata, vaca, caballo, cabra, oveja, burro, gato, perro, conejo, conejillo de indias u otro mamífero).

Tabla 3. Secuencias de Atoh1

SEQ ID NO:	Descripción de la secuencia promotora	Secuencia
4	Secuencia de aminoácidos de Atoh1 humana, número de acceso RefSeq NP_005163.1	MSRLLHAEWEAEVKELGDHHRQPQPHLPQPPPPQPPATLQARE HPVYPPELSLLDSTDPRAWLAPTLQGICTARAAQYLLHSPELGASEAA APRDEV DGRGELVRRSSGGASSSKSPGPVKVREQLCKLKGGVVVD ELGCSRQRAPSSKQVNGVQKQRRRLAANARERRRMHGLNHAFDQLR NVIPSFNNDKKLSKYETLQMAQIYINALSELLQTPSGGEQPPPPASC KSDHHHLRTAASYEGGAGNATAAGAQQASGGSQRPTPPGSCRTRF SAPASAGGYSVQLDALHFSTFEDSALTAMMAQKNLSPSLPGSILQPV QEENSKTSPRSHRSDGEFSPHSHYSDSDEAS
5	Secuencia codificante de la proteína ATOH1 humana, también documentada en Número de acceso RefSeq NM_005172.2	ATGTCCCGCCTGCTGCATGCAGAAGAGTGGGCTGAAGTGAAGGA GTTGGGAGACCACCATCGCCAGCCCCAGCCGCATCATCTCCCGC AACCGCCGCCGCCGCCGCAGCCACCTGCAACTTTGCAGGCGAGA GAGCATCCCGTCTACCCGCCTGAGCTGTCCCTCCTGGACAGCAC CGACCCACGCGCCTGGCTGGCTCCCACTTTGCAGGGCATCTGCA CGGCACGCGCCGCCAGTATTTGCTACATTCCCCGGAGCTGGGT GCCTCAGAGGCCGCTGCGCCCCGGGACGAGGTGGACGGCCGGG GGGAGCTGGTAAGGAGGAGCAGCGGCGGTGCCAGCAGCAGCAA GAGCCCCGGGCCGGTGAAAGTGCGGGAACAGCTGTGCAAGCTGA AAGGCGGGGTGGTGGTAGACGAGCTGGGCTGCAGCCGCCAACG GGCCCCTTCCAGCAAACAGGTGAATGGGGTGCAGAAGCAGAGAC GGCTAGCAGCCAACGCCAGGGAGCGGCGCAGGATGCATGGGCT GAACCACGCCTTCGACCAGCTGCGCAATGTTATCCCGTCGTTCAA CAACGACAAGAAGCTGTCCAAATATGAGACCCTGCAGATGGCCCA AATCTACATCAACGCCTTGTCCGAGCTGCTACAAACGCCCAGCGG AGGGGAACAGCCACCGCCGCCTCCAGCCTCCTGCAAAAGCGACC ACCACCACCTTCGCACCGCGGCCTCCTATGAAGGGGGCGCGGGC AACGCGACCGCAGCTGGGGCTCAGCAGGCTTCCGGAGGGAGCC AGCGGCCGACCCCGCCCGGGAGTTGCCGGACTCGCTTCTCAGCC

SEQ ID NO:	Descripción de la secuencia promotora	Secuencia
		CCAGCTTCTGCGGGAGGGTACTCGGTGCAGCTGGACGCTCTGCA CTTCTCGACTTTTCGAGGACAGCGCCCTGACAGCGATGATGGCGCA AAAGAATTTGTCTCCTTCTCTCCCCGGGAGCATCTTGCAGCCAGT GCAGGAGGAAAACAGCAAACTTCGCCTCGGTCCCACAGAAGCG ACGGGGAATTTTCCCCCATTCCTTACAGTGAAGTGGATGAGG CAAGT
6	Secuencia de aminoácidos de Atoh1 murina, UniProt P48985	MSRLLHAEWEAEVKELGDHHRHPQPHHVPPLTPQPPATLQARDLPV YPAELSLLDSTDPRAWLTPTLQGLCTARAAQYLLHSPELGASEAAAP RDEADSQGELVRRSGCGGLSKSPGPVKVREQLCKLKGGVVDELG CSRQRAPSSKQVNGVQKQRRLAANARERRRMHGLNHAQDQLRNVI PSFNNDKKLSKYETLQMAQIYINALSELLQTPNVGEQPPPPTASCKND HHHLRTASSYEGGAGASAVAGAQPAPGGGPRPTPPGPCRTRFSGP ASSGGYSVQLDALHFPFEDRAL TAMMAQKDLSPSLPGGILQPVQED NSKTSRSHRSDGEFSPHSHYSDSDEAS
7	Secuencia codificante de la proteína ATOH1 murina, también documentada con el número de acceso RefSeq NM_007500.5	ATGTCCCGCCTGCTGCATGCAGAAGAGTGGGCTGAGGTAAAAGA GTTGGGGGACCACCATCGCCATCCCCAGCCGCACCACGTCCCGC CGCTGACGCCACAGCCACCTGCTACCCTGCAGGCGAGAGACCTT CCCGTCTACCCGGCAGAACTGTCCCTCCTGGATAGCACCGACCCA CGCGCCTGGCTGACTCCCACTTTGCAGGGCCTCTGCACGGCACG CGCCGCCAGTATCTGCTGCATTCTCCCGAGCTGGGTGCCTCCG AGGCCGCGGCGCCCCGGGACGAGGCTGACAGCCAGGGTGAGCT GGTAAGGAGAAGCGGCTGTGGCGGCCTCAGCAAGAGCCCCGGG CCCGTCAAAGTACGGGAACAGCTGTGCAAGCTGAAGGGTGGGGT TGTAAGTGGACGAGCTTGGCTGCAGCCGCCAGCGAGCCCCTTCCA GCAAACAGGTGAATGGGGTACAGAAGCAAAGGAGGCTGGCAGCA AACGCAAGGGAACGGCGCAGGATGCACGGGCTGAACCACGCCTT CGACCAGCTGCGCAACGTTATCCCGTCCTTCAACAACGACAAGAA GCTGTCCAAATATGAGACCCTACAGATGGCCCAGATCTACATCAA CGCTCTGTCGGAGTTGCTGCAGACTCCCAATGTCGGAGAGCAACC GCCGCCGCCACAGCTTCCTGCAAAAATGACCACCATCACCTTCG CACCGCCTCCTCCTATGAAGGAGGTGCGGGCGCCTCTGCGGTAG

SEQ ID NO:	Descripción de la secuencia promotora	Secuencia
		CTGGGGCTCAGCCAGCCCCGGGAGGGGGCCCCGAGACCTACCCC GCCCCGGGCCTTGCCGGACTCGCTTCTCAGGCCAGCTTCCTCTG GGGGTTACTCGGTGCAGCTGGACGCTTTGCACTTCCCAGCCTTCG AGGACAGGGCCCTAACAGCGATGATGGCACAGAAGGACCTGTCTG CCTTCGCTGCCCCGGGGGCATCCTGCAGCCTGTACAGGAGGACAA CAGCAAAACATCTCCCAGATCCCACAGAAGTGACGGAGAGTTTTTC CCCCCACTCTCATTACAGTGACTCTGATGAGGCCAGT

Polinucleótidos que codifican proteínas de interés

Una plataforma que se puede utilizar para lograr concentraciones intracelulares terapéuticamente eficaces de proteínas de interés en células de mamíferos es mediante la expresión estable del gen que codifica la proteína de interés (por ejemplo, mediante la integración en el genoma nuclear o mitocondrial de una célula de mamífero, o mediante formación de concatémeros episómicos en el núcleo de una célula de mamífero). El gen es un polinucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína correspondiente. Para introducir genes exógenos en una célula de mamífero, los genes pueden incorporarse en un vector. Los vectores se pueden introducir en una célula mediante una variedad de métodos, que incluyen transformación, transfección, absorción directa, bombardeo con proyectiles y encapsulación del vector en un liposoma. Los ejemplos de métodos adecuados para transfectar o transformar células incluyen precipitación con fosfato de calcio, electroporación, microinyección, infección, lipofección y absorción directa. Dichos métodos se describen con más detalle, por ejemplo, en Green, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, cuarta edición (Cold Spring Harbor University Press, Nueva York 2014); y Ausubel, et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley & Sons, Nueva York 2015), cuyas descripciones se incorporan a la presente mediante referencia.

Las proteínas de interés también se pueden introducir en una célula de mamífero dirigiendo a un vector que contiene un gen que codifica una proteína de interés a los fosfolípidos de la membrana celular. Por ejemplo, los vectores pueden dirigirse a los fosfolípidos en la superficie extracelular de la membrana celular uniendo la molécula del vector a una proteína VSV-G, una proteína viral con afinidad por todos los fosfolípidos de la membrana celular. Tal construcción se puede producir utilizando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica.

El reconocimiento y la unión del polinucleótido que codifica una proteína de interés mediante la

ARN polimerasa de mamífero es importante para la expresión génica. Como tal, se pueden incluir elementos de secuencia dentro del polinucleótido que muestren una alta afinidad por los factores de transcripción que reclutan la ARN polimerasa y promueven el ensamblaje del complejo de transcripción en el sitio de inicio de la transcripción. Dichos elementos de secuencia incluyen, por ejemplo, un promotor de mamífero, cuya secuencia puede ser reconocida y unida por factores de iniciación de la transcripción específicos y, en última instancia, por ARN polimerasa. Se han descrito ejemplos de promotores de mamífero en Smith, et al., Mol. Sys. Biol., 3:73, publicación en línea, cuya descripción se incorpora a la presente mediante referencia. El promotor usado en los métodos y composiciones descritos en este documento es un promotor SLC6A14 (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1).

Una vez que se ha incorporado un polinucleótido que codifica una proteína de interés en el ADN nuclear de una célula de mamífero, la transcripción de este polinucleótido puede inducirse mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la expresión se puede inducir exponiendo la célula de mamífero a un reactivo químico externo, como un agente que modula la unión de un factor de transcripción y/o ARN polimerasa al promotor de mamífero y, por tanto, regula la expresión génica. El reactivo químico puede servir para facilitar la unión de la ARN polimerasa y/o los factores de transcripción al promotor de mamífero, por ejemplo, eliminando una proteína represora que se ha unido al promotor. Alternativamente, el reactivo químico puede servir para mejorar la afinidad del promotor de mamífero por la ARN polimerasa y/o los factores de transcripción, de manera que la tasa de transcripción del gen situado secuencia abajo del promotor aumente en presencia del reactivo químico. Los ejemplos de reactivos químicos que potencian la transcripción de polinucleótidos mediante los mecanismos anteriores incluyen tetraciclina y doxiciclina. Estos reactivos están disponibles comercialmente (Life Technologies, Carlsbad, CA) y se pueden administrar a una célula de mamífero para promover la expresión génica de acuerdo con los protocolos establecidos.

Otros elementos de la secuencia de ADN que pueden incluirse en los polinucleótidos para su uso en las composiciones y métodos descritos en la presente incluyen secuencias potenciadoras. Los potenciadores representan otra clase de elementos reguladores que inducen un cambio conformacional en el polinucleótido que contiene el gen de interés, de modo que el ADN adopta una orientación tridimensional que es favorable para la unión de los factores de transcripción y la ARN polimerasa en el sitio de inicio de la transcripción. Por tanto, los polinucleótidos para su uso en las composiciones y métodos descritos en este documento incluyen aquellos que codifican una proteína de interés y además incluyen una secuencia potenciadora de mamífero. En la actualidad se conocen varias secuencias potenciadoras de genes de mamíferos, y los ejemplos incluyen potenciadores de los genes que codifican

globina, elastasa, albúmina, α -fetoproteína e insulina de mamífero. Los potenciadores para usar en las composiciones y métodos descritos en el presente documento también incluyen aquellos que se derivan del material genético de un virus capaz de infectar una célula eucariota. Los ejemplos incluyen el potenciador de SV40 en el lado posterior del origen de replicación (100-270 pb), el potenciador del promotor temprano de citomegalovirus, el potenciador del poliovirus en el lado posterior del origen de replicación y potenciadores de adenovirus. Las secuencias potenciadoras adicionales que inducen la activación de la transcripción de genes eucariotas incluyen el potenciador de CMV y el potenciador de RSV. Un potenciador puede someterse a corte y empalme en un vector que contiene un polinucleótido que codifica una proteína de interés, por ejemplo, en una posición hacia 5' o 3' de este gen. En una orientación preferida, el potenciador se coloca en el lado 5' del promotor, que a su vez se ubica hacia 5' con respecto al polinucleótido que codifica una proteína de interés.

Los vectores de ácido nucleico que contienen un promotor SLC6A14 descritos en el presente documento pueden incluir un WPRE. El WPRE actúa al nivel del ARNm, al promover la exportación nuclear de transcripciones y/o al aumentar la eficiencia de la poliadenilación de la transcripción naciente, aumentando así la cantidad total de ARNm en la célula. La adición del WPRE a un vector puede resultar en una mejora sustancial en el nivel de expresión transgénica a partir de varios promotores diferentes, tanto in vitro como in vivo. En algunas modalidades de las composiciones y métodos descritos en este documento, el WPRE tiene la secuencia:

GATCCAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTA
 TGTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATT
 GCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTT
 ATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGC
 TGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGG
 ACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCCTGCCTTGC
 CCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCG
 GGGAAATCATCGTCCTTTCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCG
 CGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCC
 GCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTCCGCGTCTTCGA (SEQ ID NO: 8).

En otras modalidades, el WPRE tiene la secuencia:

AATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTG
 CTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTC

CCGTATGGCTTTTCATTTTCTCCTCCTTGATAAATCCTGGTTAGTTCTTGCCACGGC
 GGAATCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGG
 CACTGACAATTCCGTGGTGTGTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTA
 ACCATCTAGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAA
 5 GCTGCAATAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGG
 GGGAGATGTGGGAGGTTTTTTTAAA (SEQ ID NO: 9).

En algunas modalidades, los vectores de ácido nucleico que contienen un promotor SLC6A14 descrito en este documento incluyen una secuencia indicadora, que puede ser útil para verificar la expresión de un gen unido operativamente a un promotor SLC6A14 en las VSC o que puede usarse para determinar o confirmar la especificidad del promotor con respecto a células de soporte vestibular. Las secuencias indicadoras que pueden proporcionarse en un transgén incluyen secuencias de ADN que codifican β -lactamasa, β -galactosidasa (LacZ), fosfatasa alcalina, timidina quinasa, proteína verde fluorescente (GFP), cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), luciferasa y otras ampliamente conocidas en la técnica. Cuando se asocian con elementos reguladores que impulsan su expresión, tal como un promotor SLC6A14, las secuencias indicadoras proporcionan señales detectables a través de medios convencionales, incluidos los ensayos enzimáticos, radiográficos, colorimétricos, de fluorescencia u otros ensayos espectrográficos, ensayos de clasificación de células activantes fluorescentes y ensayos inmunológicos, incluidos el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), radioinmunoensayo (RIA) e inmunohistoquímica. Por ejemplo, cuando la secuencia marcadora es el gen LacZ, la presencia del vector que lleva la señal se detecta mediante ensayos para determinar la actividad de β -galactosidasa. Cuando el transgén es una proteína verde fluorescente o luciferasa, el vector que transporta la señal puede medirse visualmente mediante la producción de luz o color en un luminómetro.

Los plásmidos de transferencia que se pueden usar para producir vectores de ácido nucleico (por ejemplo, vectores AAV) para usar en las composiciones y métodos descritos en este documento se proporcionan en la Tabla 4. Un plásmido de transferencia (por ejemplo, un plásmido que contiene una secuencia de ADN para ser administrado por un vector de ácido nucleico, por ejemplo, para ser administrado por un AAV) puede coadministrarse a las células productoras con un plásmido auxiliar (por ejemplo, un plásmido que proporciona las proteínas necesarias para la fabricación de AAV) y un plásmido rep/cap (por ejemplo, un plásmido que proporciona proteínas de la cápside de AAV y proteínas que insertan la secuencia de ADN del plásmido de transferencia en la cubierta de la cápside) para producir un vector de ácido nucleico (por ejemplo, un vector de AAV) para su administración. Los plásmidos de transferencia proporcionados en la Tabla 4 pueden usarse para producir vectores de ácido nucleico (por ejemplo, vectores AAV) que contienen un promotor SLC6A14 operativamente unido a un

transgén, tal como un polinucleótido que codifica Atoh1 (murino (SEQ ID NO: 11) o humano (SEQ ID NO: 10) Atoh1) o un polinucleótido que codifica GFP (SEQ ID NO: 2).

Tabla 4. Plásmidos de transferencia

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
2	Plásmido P919	CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGCC CGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCCGGCCTCAGTGAGCG AGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGG GGTTCCTTGTAAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTAC GTAGCCATGCTCTAGGAAGATCGGAATTCGCCCTTAAGCTAGC GGCGCGCCATACACTTATGTATATGTGCGATGTCAGTGTGTGT GCATATAAAGTCCCAAACAAGCCTGTATGATATTGACCAACAA GGTCAAGGCAAAGTTTTGATACTTTCAGGTCACAACCTCTCCG CATCCCTCTCTACTTTGCTCTATCTGCCTGAACTCCTGAGGAC ATGTTTCTACTGCAAATGGAAAATCCTTGTCAGCCAGTGAGGA ACAAAGGGACTATACATAGATGAAAACCTGGCTCTCTGCTGGT TCCTTTGTTTGTATGAATTTATACAATTTGGTAAAACTGCCACC ATGTCTTACATGGACAGATTGAGTGTAGATTCTTTGAATTTTGT ATGAAGAGGCGCTGCACTGGTGATCGGAATTGCAGTCTTTCCT CTGTAGGTAACCTGGCTTGTTTCCTTACAGTTTACTTTCTAGGC CTCGCCTTTCTCACAGAGTGAAGTCCTTTGTTAAGGTTTCAATT TCCCATAAACCTGCTCAATAATTTGTTTGTGTTTGGCTTCTTTG AAATACTACACAAAGCAATCCTTGTAAGGCAAACTATTCCG AAGGCTGAGAAAGGAGCTCCAGGACATAGATTCAAAGTCGCT CTTTTCAGGTAGAGACAGCTGGGTAATCTTATCTTAACTGGCTA CATTTCAAGGTTCCCAATTCAGGGGCTTTCCCCTCTGGGAGCA GCATTCTCTCCGGGTGATGAAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAA ACTTTCAGAAAACCGGAGGGCCCAGAGCAGTCTGGTCTGTTC ACAAAAATTATAGCAAACAAAATAAGCCCGGCGGATTGGGTCT CTCCTACCTCCAGCACCAGGGGAGATCAGCACTTGGCCCCAG GACAGAGACCTGAGAAGTGAGGTTTGGAAGAAGCCAGGAATC CAGGAAAGGAGGCAAGATTGCTAAGGCACCGGCACAGCTCTG AGTCAAAAGTTGTCAGTCTTCTTTGGCTCTGGCTGCGGAGCTC
	5' ITR en las posiciones 1-130	
	Promotor SLC6A14v3 en las posiciones 219-1977	
	Secuencia de H2B en las posiciones 1992-2369	
	Secuencia de eGFP en las posiciones 2388-3107	
	WPRES en las posiciones 3116-3663	
	poliA en las posiciones 3748-3955	
	3' ITR en las posiciones 4043-	

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
	4172	AATTGCTCACAGCCCTGCCCTTTCCTAGGGCTGGGGCAAGGA ATTGCTACATTCAGGATTACCTGGGGGAAAAACCAGAGGCTTG CTTTGGTCCCTTCCGTAATTGAAAGGACTGGCCGTCAGCGA GGGGGAGGAGAGAGCTTCCCTCCATAAATGGTCCCACCCCTG GGCAAGGTGGCTCACTTTGGCAGGTAGCAACCGGGGAGTGTG CACCTGCCACCAGTCAAGCTCAGCCAGACTGTGAGAAGAGGA GAGGCGAGGCACACCAAGGGATCCAGTGAACCAACGACAGAT TGAAGTGCCCGAACTTCTTCAAGTGCAGACAGAAGGAGGTAG GGTTCTGGAAGTTTCTGGTGGTGTAGGGGAGTCAGGAAGGGA AAACAAGGAGGGAGAGTGAGTCTTAGTTTTTTGCTTTCTGTAG CTGTTCCCTTATTTTGCATATTTCTTTCTCTTCAACTCTTTTCAAG TATGCCTGATACGTTGTTCTCACGAAGTTGACGTGAAAAACAA CTTTCCTGCTGGTAGTTAGGAACTTAGGAGCACCTCAACCTG TACCTTGAGAACACCCAGAGAATGCTGCTCTTTGTGCTTCTCT ATACCGTGTTTCATATGCTGCAGGGAAATGCAAAGAATGTACTG TCCTTATCTGACCCTGGGAGCATTCCATAGTCAAGCAGCAGCT ATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCCAAGGTGTAACAGAAAAG GAAAATGTTGATATTTTCTTGTGTTAGAAAGTGACAGCTTCATC CGAGAACGCGGCCGCGCCACCATGCCAGAGCCAGCGAAGTC TGCTCCCGCCCCGAAAAAGGGCTCCAAGAAGGCGGTGACTAA GGCGCAGAAGAAAGGCGGCAAGAAGCGCAAGCGCAGCCGCA AGGAGAGCTATTCCATCTATGTGTACAAGGTTCTGAAGCAGGT CCACCCTGACACCGGCATTTTCGTCCAAGGCCATGGGCATCAT GAATTCGTTTGTGAACGACATTTTCGAGCGCATCGCAGGTGAG GCTTCCCGCCTGGCGCATTACAACAAGCGCTCGACCATCACC TCCAGGGAGATCCAGACGGCCGTGCGCCTGCTGCTGCCTGG GGAGTTGGCCAAGCACGCCGTGTCCGAGGGTACTAAGGCCAT CACCAAGTACACCAGCGCTAAGGATCCACCGGTCGCCACCAT GGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCA TCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCA GCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAG CTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCCGTG

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		CCCTGGCCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGACG TGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCT TCAAGTCCGCCATGCCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCA TCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGG TGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGA AGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACA AGCTGGAGTACAACACTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGC CGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCAAGATCCG CCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTA CCAGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGC CCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAG ACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCTGCTGGAGTTCG TGACCGCCGCGGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACA AGTAATAAGCTTGGATCCAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTG TGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGC TATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCT TCCCGTATGGCTTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTT GCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGT GGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGT TGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCG CTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCCT GCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACT GACAATTCGTTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTTCCTT GGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGT CCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCC TTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCT TCGAACAATTGCATCGGACACATCTTGGCGTTTTACAACGTCG TGAAGTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACTTAAGATCTGCCTC GACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCC CCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTC CTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAG GTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAA

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		GGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACT CGAGTTAAGGGCGAATTCCCGATAAGGATCTTCCTAGAGCATG GCTACGTAGATAAGTAGCATGGCGGGTTAATCATTAAC TACAA GGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGC TCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGAC GCCCCGGGCTTTGCCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCG CGCAGCCTTAATTAACCTAATTCAGTGGCCGTCGTTTTACAAC GTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCT TGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGA GGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAA TGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGG CGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCA GCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCT CGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGG GCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGAC CCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCAT CGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCAC GTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCA ACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCG ATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATT TAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGG CACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTT TCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCC TGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTAT TCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGCGCATTTT GCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAA AGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGA ACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCC GAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATG TGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACT CGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTAC TCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGC GGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCT AACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTT GATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGAC GAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTG CGCAAATATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGC AACAAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACC ACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGAT AAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCA GCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCT ACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGAC AGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACT GTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACT TCATTTTAAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAA TCTCATGACCAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAG CGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCC TTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACCAC CGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAA CTCTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACC AAATACTGTTCTTCTAGTGAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCA AGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCT GTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC GGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGG TCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGA GCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCT ATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAG GTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGA GGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGT CGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGC TCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCCTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCAC ATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTAT

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		TACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAAC GACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGC GCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTG ATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGG GCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATT GGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTG TGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCT ATGACCATGATTACGCCAGATTTAATTAAGGCCTTAATTAGG
10	Plásmido P990 5' ITR en las posiciones 1-130 Promotor SLC6A14v3 en las posiciones 219-1977 Secuencia de Atoh1 humana en las posiciones 1992- 3053 WPRES en las posiciones 3064- 3611 poliA en las posiciones 3624- 3831 3' ITR en las posiciones 3919-	CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCAAAGCC CGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCG AGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGG GGTTCCTTGTAAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTAC GTAGCCATGCTCTAGGAAGATCGGAATTCGCCCTTAAGCTAGC GGCGCGCCATACACTTATGTATATGTGCGATGTGAGTGTGTGT GCATATAAAGTCCCAAACAAGCCTGTATGATATTGACCAACAA GGTCAAGGCAAAGTTTTGATACTTTGAGGTCACAACCTCTCCG CATCCCTCTCTACTTTGCTCTATCTGCCTGAACTCCTGAGGAC ATGTTTCTACTGCAAATGGAAAATCCTTGTCAGCCAGTGAGGA ACAAAGGGACTATACATAGATGAAAACCTGGCTCTCTGCTGGT TCCTTTGTTTGTATGAATTTATACAATTTGGTAAACTGCCACC ATGTCTTACATGGACAGATTGAGTGTAGATTCTTTGAATTTTGT ATGAAGAGGCGCTGCACTGGTGATCGGAATTGCAGTCTTTCCT CTGTAGGTAACCTGGCTTGTTTCCTTACAGTTTACTTTCTAGGC CTCGCCTTTCTCACAGAGTGAAGTCCTTTGTTAAGGTTTCAATT TCCCATAAACCTGCTCAATAATTTGTTTGTGTTTGGCTTCTTTG AAATACTACACAAAGCAATCCTTGTAAGGCAAACTATTCCG AAGGCTGAGAAAGGAGCTCCAGGACATAGATTCAAAGTCGCT CTTTTCAGGTAGAGACAGCTGGGTAATCTTATCTTAACTGGCTA CATTTCAAGGTTCCCAATTCAGGGGCTTTCCCTCTGGGAGCA GCATTCTCTCCGGGTGATGAAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAA ACTTTCAGAAAACCGGAGGGGCCAGAGCAGTCTGGTCTGTTC ACAAAATTATAGCAAACAAAATAAGCCCGGCGGATTGGGTCT

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
	4048	CTCCTACCTCCAGCACCAGGGGAGATCAGCACTTGGCCCCAG GACAGAGACCTGAGAAGTGAGGTTTGGAGAAGCCAGGAATC CAGGAAAGGAGGCAAGATTGCTAAGGCACCGGCACAGCTCTG AGTCAAAAGTTGTCAGTCTTCTTTGGCTCTGGCTGCGGAGCTC AATTGCTCACAGCCCTGCCCTTTCCTAGGGCTGGGGCAAGGA ATTGCTACATTCAGGATTACCTGGGGGAAAAACCAGAGGCTTG CTTTGGTCCCTTCCGGTAATTGAAAGGACTGGCCGTCAGCGA GGGGGAGGAGAGAGCTTCCCTCCATAAATGGTCCCACCCCTG GGCAAGGTGGCTCACTTTGGCAGGTAGCAACCGGGGAGTGTC CACCTGCCACCAGTCAAGCTCAGCCAGACTGTGAGAAGAGGA GAGGCGAGGCACACCAAGGGATCCAGTGAACCAACGACAGAT TGAAGTGCCCGAACTTCTTCAAGTGCAGACAGAAGGAGGTAG GGTTCTGGAAGTTTCTGGTGGTGTAGGGGAGTCAGGAAGGGA AAACAAGGAGGGAGAGTGAGTCTTAGTTTTTGGCTTTCTGTAG CTGTTCTTATTTTGCATATTTCTTTCTTCAACTCTTTTCAAG TATGCCTGATACGTTGTTCTCACGAAGTTGACGTGAAAAACAA CTTTCCTGCTGGTAGTTAGGAACTTAGGAGCACCTCAACCTG TACCTTGAGAACCCAGAGAATGCTGCTCTTTGTCTGTTCTCT ATACCGTGTTTCATATGCTGCAGGGAAATGCAAAGAATGTACTG TCCTTATCTGACCCTGGGAGCATTCCATAGTCAAGCAGCAGCT ATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCCAAGGTGTAACAGAAAAG GAAAATGTTGATATTTTCTTGTTTAGAAAGTGACAGCTTCATC CGAGAACGCGGCCGCGCCACCATGTCCCGCCTGCTGCATGCA GAAGAGTGGGCTGAAGTGAAGGAGTTGGGAGACCACCATCGC CAGCCCCAGCCGCATCATCTCCCGCAACCGCCGCCGCCGCC GCAGCCACCTGCAACTTTGCAGGCGAGAGAGCATCCCGTCTA CCCGCCTGAGCTGTCCCTCCTGGACAGCACCGACCCACGCGC CTGGCTGGCTCCCACTTTGCAGGGCATCTGCACGGCACGCGC CGCCCAGTATTTGCTACATTCCCGGAGCTGGGTGCCTCAGA GGCCGCTGCGCCCCGGGACGAGGTGGACGGCCGGGGGGAG CTGGTAAGGAGGAGCAGCGGCGGTGCCAGCAGCAGCAAGAG CCCCGGGCCGGTGAAAGTGCGGGAACAGCTGTGCAAGCTGA

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		AAGGCGGGGTGGTGGTAGACGAGCTGGGCTGCAGCCGCCAA CGGGCCCCTTCCAGCAAACAGGTGAATGGGGTGCAGAAGCAG AGACGGCTAGCAGCCAACGCCAGGGAGCGGCGCAGGATGCA TGGGCTGAACCACGCCTTCGACCAGCTGCGCAATGTTATCCC GTCGTTCAACAACGACAAGAAGCTGTCCAAATATGAGACCCTG CAGATGGCCCAAATCTACATCAACGCCTTGTCCGAGCTGCTAC AAACGCCCAGCGGAGGGGAACAGCCACCGCCGCCTCCAGCC TCCTGCAAAAGCGACCACCACCACCTTCGCACCGCGGCCTCC TATGAAGGGGGCGCGGGCAACGCGACCGCAGCTGGGGCTCA GCAGGCTTCCGGAGGGAGCCAGCGGCCGACCCCGCCCGGGA GTTGCCGGACTCGCTTCTCAGCCCCAGCTTCTGCGGGAGGGT ACTCGGTGCAGCTGGACGCTCTGCACTTCTCGACTTTCGAGG ACAGCGCCCTGACAGCGATGATGGCGCAAAAGAATTTGTCTC CTTCTCTCCCCGGGAGCATCTTGACGCCAGTGCAGGAGGAAA ACAGCAAAACTTCGCCTCGGTCCACAGAAGCGACGGGGAAT TTTCCCCCATTCCCATACAGTGACTCGGATGAGGCAAGTTA GAAGCTTGGATCCAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAA GATTGACTGGTATTCTTAAGTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGT GGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCG TATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGT CTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCG TGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGG GCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCGGGACTTTCGCTTT CCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCCTGCCT TGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAA TTCCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTG CTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTC TGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCC GCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTCCGCGTCTTCGAG ATCTGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTT TGCCCTCCCCCGTGCCTTCTTGACCCTGGAAGGTGCCACT CCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTG

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		TCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCA GGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATG CTGGGGACTCGAGTTAAGGGCGAATTCCCGATAAGGATCTTC CTAGAGCATGGCTACGTAGATAAGTAGCATGGCGGGTTAATCA TTAACTACAAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTC TCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGT CGCCCGACGCCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCG AGCGAGCGCGCAGCCTTAATTAACCTAATTCACTGGCCGTCGT TTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACCTT AATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATA GCGAAGAGGCCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCA GCCTGAATGGCGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAA GCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACA CTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTT CCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAA TCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCAC CTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTG GGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGA GTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAA CACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATT TTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACA AAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTA GGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTT TATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAAT AACCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATG AGCCATATTCAACGGGAAACGTGAGGCCGCGATTAAATTCCA ACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAA TGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGATGGGAAG CCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGC GTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAACTGGC TGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGT ACTCCTGATGATGCATGGTTACTCACCCTGCGATCCCCGGAA

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		AAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGA AAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCAT TCGATTCCTGTTTGTAATTGTCCTTTTAACAGCGATCGCGTATT TCGTCTTGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGTTTTGTT GATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTG AACAAGTCTGGAAAGAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCG GATTCAGTCGTCACCTCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTAT TTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGA GTCGGAATCGCAGACCGATAACCAGGATCTTGCCATCCTATGGA ACTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTT CAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTT TCATTTGATGCTCGATGAGTTTTTCTAACTGTCAGACCAAGTTT ACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTTAATTTAA AAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAA TCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGT AGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCG TAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGT GGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAG GTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTC TAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGC ACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCT GCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCA AGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGGCTGAACG GGGGGTTCTGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTAC ACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCC ACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGC GGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGG GGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGGTTTCGCCAC CTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGC GGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGT TCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCG TTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTG

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		AGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCG AGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAAC CGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGC ACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACG CAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTT ACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGC GGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG CCAGATTTAATTAAGGCCTTAATTAGG
11	Plásmido P1071 5' ITR en las posiciones 1-130 Promotor SLC6A14v3 en las posiciones 219-1977 Secuencia de Atoh1 murina en las posiciones 1992- 3044 WPRES en las posiciones 3055- 3602 poliA en las posiciones 3615- 3822 3' ITR en las posiciones 3910-	CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCAAAGCC CGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCG AGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACCTCCATCACTAGG GGTTCCTTGTAAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTATCTAC GTAGCCATGCTCTAGGAAGATCGGAATTCGCCCTTAAGCTAGC GGCGCGCCATACACTTATGTATATGTGCGATGTGAGTGTGTGT GCATATAAAGTCCCAAACAAGCCTGTATGATATTGACCAACAA GGTCAAGGCAAAGTTTTGATACTTTCAGGTCACAACCTCTCCG CATCCCTCTCTACTTTGCTCTATCTGCCTGAACTCCTGAGGAC ATGTTTCTACTGCAAATGGAAAATCCTTGTGAGCCAGTGAGGA ACAAAGGGACTATACATAGATGAAAACCTGGCTCTCTGCTGGT TCCTTTGTTTGTATGAATTTATACAATTTGGTAAAACTGCCACC ATGTCTTACATGGACAGATTGAGTGTAGATTCTTTGAATTTTGT ATGAAGAGGCGCTGCACTGGTGATCGGAATTGCAGTCTTTCCT CTGTAGGTAACCTGGCTTGTTTCCTTACAGTTTACTTTCTAGGC CTCGCCTTTCTCACAGAGTGAAGTCCTTTGTTAAGGTTTCAATT TCCCATAAACCTGCTCAATAATTTGTTTGTGTTTGGCTTCTTTG AAATACTACACAAAGCAATCCTTGTAAGGCAAACTATTCCG AAGGCTGAGAAAGGAGCTCCAGGACATAGATTCAAAGTCGCT CTTTTCAGGTAGAGACAGCTGGGTAATCTTATCTTAACTGGCTA CATTTCAAGGTTCCCAATTCAGGGGCTTTCCCCTCTGGGAGCA GCATTCTCTCCGGGTGATGAAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAA ACTTTCAGAAAACCGGAGGGGCCAGAGCAGTCTGGTCTGTTC ACAAAAATTATAGCAAACAAAATAAGCCCGGCGGATTGGGTCT

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
	4039	CTCCTACCTCCAGCACCCAGGGGAGATCAGCACTTGGCCCCAG GACAGAGACCTGAGAAGTGAGGTTTGGAAGAAGCCAGGAATC CAGGAAAGGAGGCAAGATTGCTAAGGCACCGGCACAGCTCTG AGTCAAAAGTTGTCAGTCTTCTTTGGCTCTGGCTGCGGAGCTC AATTGCTCACAGCCCTGCCCTTTCCTAGGGCTGGGGCAAGGA ATTGCTACATTCAGGATTACCTGGGGGAAAAACCAGAGGCTTG CTTTGGTCCCTTCCGGTAATTGAAAGGACTGGCCGTCAGCGA GGGGGAGGAGAGAGCTTCCCTCCATAAATGGTCCCACCCCTG GGCAAGGTGGCTCACTTTGGCAGGTAGCAACCGGGGAGTGTC CACCTGCCACCAGTCAAGCTCAGCCAGACTGTGAGAAGAGGA GAGGCGAGGCACACCAAGGGATCCAGTGAACCAACGACAGAT TGAAGTGCCCGAACTTCTTCAAGTGCAGACAGAAGGAGGTAG GGTTCTGGAAGTTTCTGGTGGTGTAGGGGAGTCAGGAAGGGA AAACAAGGAGGGAGAGTGAGTCTTAGTTTTTTGCTTTCTGTAG CTGTTCTTATTTTGCATATTTCTTTCTTCAACTCTTTTCAAG TATGCCTGATACGTTGTTCTCACGAAGTTGACGTGAAAAACAA CTTTCCTGCTGGTAGTTAGGAACTTAGGAGCACCTCAACCTG TACCTTGAGAACACCCAGAGAATGCTGCTCTTTGTCTGTTCTCT ATACCGTGTTTCATATGCTGCAGGGAAATGCAAAGAATGTACTG TCCTTATCTGACCCTGGGAGCATTCCATAGTCAAGCAGCAGCT ATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCCAAGGTGTAACAGAAAAG GAAAATGTTGATATTTTCTTGTTTAGAAAGTGACAGCTTCATC CGAGAACGCGGCCGCGCCACCATGTCCCGCCTGCTGCATGCA GAAGAGTGGGCTGAGGTAAAAGAGTTGGGGGACCACCATCGC CATCCCCAGCCGCACCACGTCCCGCCGCTGACGCCACAGCCA CCTGCTACCCTGCAGGCGAGAGACCTTCCCGTCTACCCGGCA GAACTGTCCCTCCTGGATAGCACCGACCCACGCGCCTGGCTG ACTCCCACTTTGCAGGGCCTCTGCACGGCACGCGCCGCCAG TATCTGCTGCATTCTCCCGAGCTGGGTGCCTCCGAGGCCGCG GCGCCCCGGGACGAGGCTGACAGCCAGGGTGAGCTGGTAAG GAGAAGCGGCTGTGGCGGCCTCAGCAAGAGCCCCGGGCCCG TCAAAGTACGGGAACAGCTGTGCAAGCTGAAGGGTGGGGTTG

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		TAGTGGACGAGCTTGGCTGCAGCCGCCAGCGAGCCCCTTCCA GCAAACAGGTGAATGGGGTACAGAAGCAAAGGAGGCTGGCAG CAAACGCAAGGGAACGGCGCAGGATGCACGGGCTGAACCAC GCCTTCGACCAGCTGCGCAACGTTATCCCGTCCTTCAACAACG ACAAGAAGCTGTCCAAATATGAGACCCTACAGATGGCCCAGAT CTACATCAACGCTCTGTCTGGAGTTGCTGCAGACTCCCAATGTC GGAGAGCAACCGCCGCCGCCACAGCTTCCTGCAAAAATGAC CACCATCACCTTCGCACCGCCTCCTCCTATGAAGGAGGTGCG GGCGCCTCTGCGGTAGCTGGGGCTCAGCCAGCCCCGGGAGG GGGCCCCGAGACCTACCCCGCCCGGGCCTTGCCGGACTCGCT TCTCAGGCCAGCTTCCTCTGGGGGTTACTCGGTGCAGCTGG ACGCTTTGCACTTCCCAGCCTTCGAGGACAGGGCCCTAACAG CGATGATGGCACAGAAGGACCTGTCGCCTTCGCTGCCCGGGG GCATCCTGCAGCCTGTACAGGAGGACAACAGCAAAACATCTC CCAGATCCCACAGAAGTGACGGAGAGTTTTCCCCCACTCTCA TTACAGTGACTCTGATGAGGCCAGTTAGAAGCTTGATCCAAT CAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCT TAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAA TGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTC TCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTT GTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTT TGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTG TCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCC ACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACA GGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTGCG GGGAAATCATCGTCCTTTCCCTTGCTGCTCGCCTGTGTTGCCA CCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGG CCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGG CTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGAGATCTGCCTCGACTGTG CCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCCCCGTGC CTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTA ATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATT

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		CTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAG GATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACTCGAGTTAA GGGCGAATTCCCGATAAGGATCTTCCTAGAGCATGGCTACGTA GATAAGTAGCATGGCGGGTTAATCATTAACTACAAGGAACCCC TAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGC TCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCCGACGCCCGGGC TTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCCT TAATTAACCTAATTCAGTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACT GGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACCTTAATCGCCTTGCAGCACA TCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCAC CGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATG GGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGG TGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAG CGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTCTCGCCACGTT CGCCGGCTTTCCTCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTA GGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAAC TTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATA GACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATA GTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTC GGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCT ATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAAT TTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGCACTTTTCGG GGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACA TTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGC TTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGCCATATTCAACGG GAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCCAACATGGATGCTGATT TATATGGGTATAAATGGGCTCGCGATAATGTCGGGCAATCAGG TGCGACAATCTATCGCTTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGA GTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTT ACAGATGAGATGGTCAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGC CTCTTCCGACCATCAAGCATTTTATCCGTACTCCTGATGATGCA TGGTTACTCACCCTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGG

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		TATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGCG CTGGCAGTGTTCTGCGCCGGTTGCATTTCGATTCCTGTTTGT ATTGTCCTTTTAAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTTGCTCAGGC GCAATCACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTT GATGACGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAA GAAATGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTCAC TCATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGA AATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGA CCGATACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTGAG TTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATT GATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGA TGAGTTTTTCTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTA GATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAA GATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAATCCCTTAACGTGAGT TTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGG ATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGC AAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGA TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGC AGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGT TAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCT CGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGAT AAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGAAGTCAAGACGATAGTTACCGG ATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACA CAGCCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATAC CTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGG AGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTTCGGAAC AGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGT ATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCG TCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAA AAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGC TGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTC TGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCT

SEQ ID NO.	Descripción	Secuencia de plásmido
		CGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGA GGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGC GCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCC GACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGT TAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCC GGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTAC ACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAGATTTAATTAAG GCCTTAATTAGG

Métodos para la administración de ácidos nucleicos exógenos a las células diana

Las técnicas que pueden usarse para introducir un transgén, tal como un transgén unido operativamente a un promotor SLC6A14 descrito en el presente documento, en una célula diana (por ejemplo, una célula de mamífero) son ampliamente conocidas en la técnica. Por ejemplo, la electroporación puede usarse para permeabilizar células de mamíferos (por ejemplo, células diana humanas) mediante la aplicación de un potencial electrostático a la célula de interés. Las células de mamífero, tales como las células humanas, sometidas a un campo eléctrico externo de esta manera, quedan posteriormente predisuestas a la absorción de ácidos nucleicos exógenos. La electroporación de células de mamífero se describe en detalle, por ejemplo, en Chu et al., Nucleic Acids Research 15:1311 (1987), cuya descripción se incorpora a la presente mediante referencia. Una técnica similar, Nucleofection™, utiliza un campo eléctrico aplicado para estimular la absorción de polinucleótidos exógenos en el núcleo de una célula eucariota. Nucleofection™ y los protocolos útiles para realizar esta técnica se describen en detalle, por ejemplo, en Distler et al., Experimental Dermatology 14:315 (2005), así como en US 2010/0317114, cuyas descripciones se incorporan a la presente mediante referencia.

Las técnicas adicionales útiles para la transfección de células diana incluyen la metodología de compresión-poración. Esta técnica induce la rápida deformación mecánica de las células para estimular la absorción de ADN exógeno a través de los poros membranosos que se forman en respuesta al estrés aplicado. Esta tecnología es ventajosa porque no se requiere un vector para la administración de ácidos nucleicos a una célula, tal como una célula diana humana. La compresión-poración se describe en detalle, por ejemplo, en Sharei et al., Journal of Visualized Experiments 81:e50980 (2013), cuya descripción se incorpora en la presente mediante referencia.

La lipofección representa otra técnica útil para la transfección de células diana. Este método implica la carga de ácidos nucleicos en un liposoma, que a menudo presenta grupos funcionales

cati6nicos, tales como aminos cuaternarios o protonados, hacia el exterior del liposoma. Esto promueve interacciones electrostáticas entre el liposoma y una célula debido a la naturaleza ani6nica de la membrana celular, lo que, en última instancia, conduce a la absorci6n de los ácidos nucleicos ex6genos, por ejemplo, por fusi6n directa del liposoma con la membrana celular o por endocitosis del complejo. La lipofecci6n se describe en detalle, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 7,442,386, cuya descripci6n se incorpora a la presente mediante referencia. Técnicas similares que aprovechan las interacciones i6nicas con la membrana celular para provocar la absorci6n de ácidos nucleicos extraños incluyen poner en contacto una célula con un complejo de polímero cati6nico-ácido nucleico. Los ejemplos de moléculas cati6nicas que se asocian con polinucleótidos para impartir una carga positiva favorable para la interacci6n con la membrana celular incluyen dendrímeros activados (descritos, por ejemplo, en Dennig, Topics in Current Chemistry 228:227 (2003), cuya descripci6n se incorpora a la presente mediante referencia) polietilenimina y dietilaminoetil (DEAE)-dextrano, cuyo uso como agente de transfecci6n se describe en detalle, por ejemplo, en Gulick et al., Current Protocols in Molecular Biology 40:I:9.2:9.2.1 (1997), cuya descripci6n se incorpora a la presente mediante referencia. Las perlas magnéticas son otra herramienta que se puede utilizar para transfectar células diana de forma moderada y eficiente, ya que esta metodología utiliza un campo magnético aplicado para dirigir la absorci6n de ácidos nucleicos. Esta tecnología se describe en detalle, por ejemplo, en US 2010/0227406, cuya descripci6n se incorpora a la presente mediante referencia.

Otra herramienta útil para inducir la absorci6n de ácidos nucleicos ex6genos por parte de las células diana es la laserfecci6n, también llamada transfecci6n óptica, una técnica que consiste en exponer una célula a radiaci6n electromagnética de una longitud de onda particular para permeabilizar levemente las células y permitir que los polinucleótidos penetren en la membrana celular. La bioactividad de esta técnica es similar, y en algunos casos superior, a la electroporaci6n.

La impalefecci6n es otra técnica que puede utilizarse para administrar material genético a las células diana. Se basa en el uso de nanomateriales, tales como nanofibras de carbono, nanotubos de carbono y nanocables. Las nanoestructuras en forma de aguja se sintetizan perpendicularmente a la superficie de un sustrato. El ADN que contiene el gen, destinado a la administraci6n intracelular, se une a la superficie de la nanoestructura. A continuaci6n, se presiona un chip con matrices de estas agujas contra las células o el tejido. Las células que están empaladas por nanoestructuras pueden expresar los uno o más genes administrados. Un ejemplo de esta técnica se describe en Shalek et al., PNAS 107: 1870 (2010), cuya descripci6n se incorpora a la presente mediante referencia.

También se puede utilizar la magnetofecci6n para administrar ácidos nucleicos a las células diana. El principio de magnetofecci6n consiste en asociar ácidos nucleicos con nanopartículas magnéticas cati6nicas. Las nanopartículas magnéticas están hechas de óxido de hierro, que es

completamente biodegradable, y están recubiertas con moléculas patentadas catiónicas específicas que varían según las aplicaciones. Su asociación con los vectores génicos (ADN, ARN, vector viral, etc.) se logra mediante agregación coloidal inducida por sales e interacción electrostática. Luego, las partículas magnéticas se concentran en las células diana por la influencia de un campo magnético externo generado por imanes. Esta técnica se describe en detalle en Scherer et ál., *Gene Therapy* 9:102 (2002), cuya descripción se incorpora a la presente mediante referencia.

Otra herramienta útil para inducir la absorción de ácidos nucleicos exógenos por parte de las células diana es la sonoporación, una técnica que implica el uso de sonido (típicamente frecuencias ultrasónicas) para modificar la permeabilidad de la membrana plasmática celular para permeabilizar las células y permitir que los polinucleótidos penetren en la membrana celular. Esta técnica se describe en detalle, por ejemplo, en Rhodes et al., *Methods in Cell Biology* 82:309 (2007), cuya descripción se incorpora a la presente mediante referencia.

Las microvesículas representan otro vehículo potencial que puede usarse para modificar el genoma de una célula diana de acuerdo con los métodos descritos en este documento. Por ejemplo, las microvesículas que han sido inducidas por la sobreexpresión conjunta de la glicoproteína VSV-G, por ejemplo, con una proteína modificadora del genoma, tal como una nucleasa, pueden usarse para administrar proteínas de manera eficiente en una célula que posteriormente cataliza la escisión específica del sitio de una secuencia de polinucleótidos endógena para preparar el genoma de la célula para la incorporación covalente de un polinucleótido de interés, tal como un gen o una secuencia reguladora. El uso de dichas vesículas, también denominadas Gesicles, para la modificación genética de células eucariotas se describe en detalle, por ejemplo, en Quinn et al., *Genetic Modification of Target Cells by Direct Delivery of Active Protein* [resumen]. En: *Methylation changes in early embryonic genes in cancer* [resumen], en: *Actas de la 18.^a reunión anual de la Sociedad Estadounidense de Terapia Genética y Celular*; 13 de mayo de 2015, Resumen n.º 122.

Vectores para la administración de ácidos nucleicos exógenos a las células diana

Además de lograr altas tasas de transcripción y traducción, se puede lograr la expresión estable de un gen exógeno en una célula de mamífero mediante la integración del polinucleótido que contiene el gen en el genoma nuclear de la célula de mamífero. Se ha desarrollado una variedad de vectores para la administración e integración de polinucleótidos que codifican proteínas exógenas en el ADN nuclear de una célula de mamífero. Se describen ejemplos de vectores de expresión, por ejemplo, en Gellissen, *Production of Recombinant Proteins: Novel Microbial and Eukaryotic Expression Systems* (John Wiley & Sons, Marblehead, MA, 2006). Los vectores de expresión para usar en las composiciones y métodos descritos en este documento contienen un promotor SLC6A14 (por ejemplo, un polinucleótido que tiene

al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1) operativamente unido a una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína de interés, así como, por ejemplo, elementos de secuencia adicionales utilizados para la expresión de estos agentes y/o la integración de estas secuencias de polinucleótidos en el genoma de una célula de mamífero. Los vectores que pueden contener un promotor SLC6A14 operativamente unido a un transgén que codifica una proteína de interés incluyen plásmidos (por ejemplo, moléculas de ADN circular que pueden replicarse de forma autónoma dentro de una célula), cósmidos (por ejemplo, vectores pWE o sCos), cromosomas artificiales (por ejemplo, un cromosoma artificial humano (HAC), un cromosoma artificial de levadura (YAC), un cromosoma artificial bacteriano (BAC) o un cromosoma artificial derivado de P1 (PAC)) y vectores virales. Determinados vectores que pueden usarse para la expresión de una proteína de interés incluyen plásmidos que contienen secuencias reguladoras, tales como regiones potenciadoras, que dirigen la transcripción génica. Otros vectores útiles para la expresión de una proteína de interés contienen secuencias de polinucleótidos que potencian la tasa de traducción de estos genes o mejoran la estabilidad o exportación nuclear del ARNm que resulta de la transcripción de genes. Estos elementos de secuencia incluyen, por ejemplo, regiones no traducidas 5' y 3', un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) y un sitio de señal de poliadenilación para dirigir la transcripción eficiente del gen transportado en el vector de expresión. Los vectores de expresión adecuados para usar con las composiciones y métodos descritos en este documento también pueden contener un polinucleótido que codifica un marcador para la selección de células que contienen dicho vector. Los ejemplos de un marcador adecuado incluyen genes que codifican resistencia a antibióticos, tales como ampicilina, cloranfenicol, kanamicina o nourseotricina.

Vectores virales para la administración de ácidos nucleicos

Los genomas virales proporcionan una rica fuente de vectores que se pueden usar para la administración eficiente de un gen de interés en el genoma de una célula diana (por ejemplo, una célula de mamífero, como una célula humana). Los genomas virales son vectores particularmente útiles para la administración de genes porque los polinucleótidos contenidos dentro de dichos genomas se incorporan típicamente en el genoma nuclear de una célula de mamífero mediante transducción generalizada o especializada. Estos procesos ocurren como parte del ciclo de replicación viral natural y no requieren proteínas o reactivos agregados para inducir la integración génica. Los ejemplos de vectores virales incluyen un retrovirus (por ejemplo, vector viral de la familia Retroviridae), adenovirus (por ejemplo, Ad5, Ad26, Ad34, Ad35 y Ad48), parvovirus (por ejemplo, virus adenoasociados), coronavirus, virus de ARN de cadena negativa como ortomixovirus (por ejemplo, virus de la influenza),

rabdovirus (por ejemplo, virus de la rabia y de la estomatitis vesicular), paramixovirus (por ejemplo, sarampión y Sendai), virus de ARN de cadena positiva, como picornavirus y alfavirus, y virus de ADN de doble cadena, incluidos adenovirus, herpesvirus (por ejemplo, virus del herpes simple tipos 1 y 2, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus) y poxvirus (por ejemplo, vaccinia, vaccinia Ankara modificada (MVA), viruela aviar y viruela del canario). Otros virus incluyen el virus Norwalk, togavirus, flavivirus, reovirus, papovavirus, hepadnavirus, virus del papiloma humano, virus espumoso humano y virus de la hepatitis, por ejemplo. Ejemplos de retrovirus incluyen: leucosis-sarcoma aviar, virus de tipo C aviar, virus de tipo C de mamífero, virus de tipo B, virus de tipo D, oncoretrovirus, grupo HTLV-BLV, lentivirus, alfaretrovirus, gammaretrovirus, espumavirus (Coffin, J. M., *Retroviridae: The viruses and their replication*, Virology, tercera edición (Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996)). Otros ejemplos incluyen virus de la leucemia murina, virus del sarcoma murino, virus del tumor mamario del ratón, virus de la leucemia bovina, virus de la leucemia felina, virus del sarcoma felino, virus de la leucemia aviar, virus de la leucemia de linfocitos T humanos, virus endógeno del babuino, virus de la leucemia del mono Gibbon, virus del mono Mason Pfizer, virus de la inmunodeficiencia de los simios, virus del sarcoma de los simios, virus del sarcoma de Rous y lentivirus. Se describen otros ejemplos de vectores, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5,801,030, cuya descripción se incorpora en la presente como referencia en lo que se refiere a vectores virales para uso en terapia génica.

Vectores AAV para la administración de ácido nucleico

En algunas modalidades, los polinucleótidos de las composiciones y métodos descritos en este documento se incorporan en vectores rAAV y/o viriones para facilitar su introducción en una célula (por ejemplo, una VSC). Los vectores rAAV útiles en las composiciones y métodos descritos en este documento son construcciones de ácidos nucleicos recombinantes que incluyen (1) un promotor SLC6A14 descrito en este documento (p. ej., un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1), (2) una secuencia heteróloga que se va a expresar y (3) secuencias virales que facilitan la estabilidad y expresión de los genes heterólogos. Las secuencias virales pueden incluir aquellas secuencias de AAV que se requieren en cis para la replicación y empaquetamiento (por ejemplo, ITR funcionales) del ADN en un virión. En aplicaciones típicas, el transgén codifica una proteína que puede promover o aumentar el desarrollo de las células ciliadas vestibulares, la especificación del destino de las células ciliadas vestibulares, la regeneración de las células ciliadas vestibulares, la proliferación de las células ciliadas vestibulares y/o VSC, la enervación de las células ciliadas vestibulares o la maduración de células ciliadas vestibulares, o una forma de tipo salvaje de una proteína de células ciliadas vestibulares que está mutada en sujetos

con formas de disfunción vestibular hereditaria que puede ser útil para mejorar la función vestibular en sujetos portadores de una mutación asociada con disfunción vestibular (p. ej., mareos, vértigo, desequilibrio, vestibulopatía bilateral, hipofunción vestibular bilateral, oscilopsia o un trastorno del equilibrio). Dichos vectores rAAV también pueden contener genes indicadores o marcadores. Los vectores rAAV útiles tienen uno o más de los genes WT de AAV eliminados en su totalidad o en parte, pero retienen las secuencias ITR flanqueantes funcionales. Los ITR de AAV pueden ser de cualquier serotipo adecuado para una aplicación particular. Para su uso en los métodos y composiciones descritos en el presente documento, las ITR pueden ser ITR de AAV2. Los métodos para usar vectores rAAV se describen, por ejemplo, en Tal et al., J. Biomed. Sci. 7:279 (2000) y Monahan y Samulski, Gene Delivery 7:24 (2000), cuyas descripciones se incorporan a la presente mediante referencia en lo que respecta a los vectores AAV para la administración de genes.

Los polinucleótidos y vectores descritos en la presente (por ejemplo, un promotor SLC6A14 unido operativamente a un transgén que codifica una proteína de interés) pueden incorporarse en un virión rAAV para facilitar la introducción del polinucleótido o vector en una célula (por ejemplo, una VSC). Las proteínas de la cápside de AAV componen la parte exterior, sin ácido nucleico del virión y están codificadas por el gen cap de AAV. El gen cap codifica tres proteínas de la cubierta viral, VP1, VP2 y VP3, que son necesarias para el ensamblaje del virión. La construcción de viriones de rAAV se ha descrito, por ejemplo, en los documentos US 5,173,414; US 5,139,941; US 5,863,541; US 5,869,305; US 6,057,152; y US 6,376,237; así como en Rabinowitz et al., J. Virol. 76:791 (2002) y Bowles et al., J. Virol. 77:423 (2003), las descripciones de cada una de las cuales se incorporan a la presente mediante referencia en lo que respecta a los vectores AAV para la administración de genes.

Los viriones rAAV útiles junto con las composiciones y métodos descritos en la presente incluyen los derivados de una variedad de serotipos de AAV, incluidos AAV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, rh10, rh39, rh43, rh74, Anc80, Anc80L65, DJ/8, DJ/9, 7m8, PHP.B, PHP.eB y PHP.S. Para dirigirse a VSC, pueden ser particularmente útiles los serotipos AAV1, AAV2, AAV2quad (Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, Anc80, Anc80L65, 7m8, PHP.B, PHP.eB o PHP.S. Los serotipos desarrollados para la transducción de la retina también pueden usarse en los métodos y composiciones descritos en la presente. La construcción y el uso de vectores AAV y proteínas AAV de diferentes serotipos se describen, por ejemplo, en Chao et al., Mol. Ther. 2:619 (2000); Davidson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 97:3428 (2000); Xiao et al., J. Virol. 72:2224 (1998); Halbert et al., J. Virol. 74:1524 (2000); Halbert et al., J. Virol. 75:6615 (2001); y Auricchio et al., Hum. Molec. Genet. 10:3075 (2001), cuyas descripciones se incorporan a la presente mediante referencia en lo que respecta a los vectores AAV para la administración de genes.

También son útiles junto con las composiciones y los métodos descritos en el presente

documento los vectores rAAV pseudotipados. Los vectores pseudotipados incluyen vectores AAV de un serotipo dado (por ejemplo, AAV9) pseudotipados con un gen de la cápside derivado de un serotipo distinto del serotipo dado (por ejemplo, AAV1, AAV2, AAV2quad (Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, etc.). Las técnicas que implican la construcción y el uso de viriones rAAV pseudotipados son conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en Duan et al., J. Virol. 75:7662 (2001); Halbert et al., J. Virol. 74:1524 (2000); Zolotukhin et al., Methods, 28:158 (2002); y Auricchio et al., Hum. Molec. Genet. 10:3075 (2001).

Los viriones AAV que tienen mutaciones dentro de la cápside del virión se pueden usar para infectar tipos de células particulares más eficazmente que los viriones de la cápside no mutados. Por ejemplo, los mutantes de AAV adecuados pueden tener mutaciones de inserción de ligando para facilitar el direccionamiento de AAV a tipos de células específicos. La construcción y caracterización de mutantes de cápside de AAV que incluyen mutantes de inserción, mutantes de cribado de alanina y mutantes de etiqueta de epítipo se describen en Wu et al., J. Virol. 74:8635 (2000). Otros viriones de rAAV que se pueden usar en los métodos descritos en el presente documento incluyen los híbridos de cápside que se generan por reproducción molecular del virus, así como por mezcla de exones. Véase, por ejemplo, Soong et al., Nat. Genet., 25:436 (2000) y Kolman y Stemmer, Nat. Biotechnol. 19:423 (2001).

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico (por ejemplo, un vector AAV) incluye un promotor SLC6A14 descrito en el presente documento (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO:1) operativamente unido a una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana (proteína ATOH1 humana = n.º de acceso RefSeq NP_005163 (SEQ ID NO: 4); secuencia de ARNm = n.º de acceso RefSeq NM_005172). En algunas modalidades, el promotor SLC6A14 es el promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO:1 (también representado por los nucleótidos 219-1977 de la SEQ ID NO: 10) y está operativamente unido a una secuencia polinucleotídica que codifica Atoh1 humana. En algunas modalidades, la secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana es la SEQ ID NO: 5. En algunas modalidades, la secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana es cualquier secuencia de polinucleótidos que, por redundancia del código genético, codifica la SEQ ID NO: 4. La secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana puede presentar optimización de codones parcial o completa para la expresión. En algunas modalidades, el vector de incluye, en el orden 5' a 3', una primera repetición terminal invertida; un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1; una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana unida operativamente al promotor SLC6A14; una secuencia de poliadenilación; y una segunda repetición terminal invertida. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico incluye, en el orden 5' a 3', una primera repetición terminal invertida; un promotor

SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1; una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 humana unida operativamente al promotor SLC6A14; un elemento regulador postranscripcional de marmota (WPRE); una secuencia de poliadenilación; y una segunda repetición terminal invertida. En algunas modalidades, el WPRE tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 8 o la SEQ ID NO: 9. En algunas modalidades, el WPRE

5 tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 8. En algunas modalidades, el WPRE tiene la secuencia de nucleótidos 3064-3611 de la SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, la secuencia de poliadenilación tiene la secuencia de nucleótidos 3624-3831 de la SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, el vector de ácido nucleico incluye los nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10, flanqueados por repeticiones terminales invertidas. En algunas modalidades, las repeticiones terminales invertidas son

10 repeticiones terminales invertidas AAV2. En algunas modalidades, las repeticiones terminales invertidas son cualquier variante de las repeticiones terminales invertidas de AAV2 que pueden encapsidarse mediante un plásmido que porta el gen Rep de AAV2. En modalidades particulares, el vector de ácido nucleico incluye los nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10, flanqueados por repeticiones terminales invertidas, en el que la repetición terminal invertida 5' tiene al menos 80 % de identidad de secuencia

15 (por ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con los nucleótidos 1-130 de la SEQ ID NO: 10; y en el que la repetición terminal invertida 3' tienen al menos un 80 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con los

20 nucleótidos 3919-4048 de la SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico es un vector viral. En algunas modalidades, el vector viral es un vector AAV. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV8.

En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico (por ejemplo, un vector AAV) incluye un promotor SLC6A14 descrito en este documento (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos un

25 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1) unido operativamente a una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina (proteína ATOH1 murina = UniProt P48985 (SEQ ID NO: 6); secuencia de ARNm = n.º de acceso de RefSeq NM_007500.5). En algunas modalidades, el promotor SLC6A14 es el promotor SLC6A14 de la SEQ ID

30 NO: 1 (también representado por los nucleótidos 219-1977 de la SEQ ID NO: 11) y está operativamente unido a una secuencia de polinucleótido que codifica Atoh1 murina. En algunas modalidades, la secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina es la SEQ ID NO: 7. En algunas modalidades, la secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina es cualquier secuencia de polinucleótidos que, por redundancia del código genético, codifica la SEQ ID NO: 6. La secuencia de polinucleótidos

que codifica Atoh1 murina puede presentar optimización de codones parcial o completa para la expresión. En algunas modalidades, el vector de incluye, en el orden 5' a 3', una primera repetición terminal invertida; un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1; una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina unida operativamente al promotor SLC6A14; una secuencia de poliadenilación; y una segunda repetición terminal invertida. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico incluye, en el orden 5' a 3', una primera repetición terminal invertida; un promotor SLC6A14 de la SEQ ID NO: 1; una secuencia de polinucleótidos que codifica Atoh1 murina unida operativamente al promotor SLC6A14; un elemento regulador postranscripcional de marmota (WPRES); una secuencia de poliadenilación; y una segunda repetición terminal invertida. En algunas modalidades, el WPRES tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 8 o SEQ ID NO: 9. En algunas modalidades, el WPRES tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 8. En algunas modalidades, el WPRES tiene la secuencia de nucleótidos 3055-3602 de la SEQ ID NO: 11. En algunas modalidades, la secuencia de poliadenilación tiene la secuencia de nucleótidos 3615-3822 de la SEQ ID NO: 11. En determinadas modalidades, el vector de ácido nucleico incluye los nucleótidos 219-3822 de la SEQ ID NO: 11, flanqueados por repeticiones terminales invertidas. En algunas modalidades, las repeticiones terminales invertidas son repeticiones terminales invertidas AAV2. En algunas modalidades, las repeticiones terminales invertidas son cualquier variante de las repeticiones terminales invertidas de AAV2 que pueden encapsidarse mediante un plásmido que porta el gen Rep de AAV2. En modalidades particulares, el vector de ácido nucleico incluye los nucleótidos 219-3822 de la SEQ ID NO: 11, flanqueados por repeticiones terminales invertidas, en el que la repetición terminal invertida 5' tiene al menos 80 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con los nucleótidos 1-130 de la SEQ ID NO: 11; y en el que la repetición terminal invertida 3' tienen al menos un 80 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia) con los nucleótidos 3910-4039 de la SEQ ID NO: 11. En algunas modalidades, el vector de ácido nucleico es un vector viral. En algunas modalidades, el vector viral es un vector AAV. En algunas modalidades, el vector AAV tiene una cápside de AAV8.

Los expertos en la técnica deben entender que la creación de un vector viral de la invención normalmente requiere el uso de un plásmido de la invención junto con plásmidos adicionales que proporcionan los elementos necesarios para el empaquetamiento y la viabilidad viral adecuados (por ejemplo, para AAV, plásmidos que proporcionan el gen rep, gen cap y otros genes de AAV adecuados (por ejemplo, E2A y E4)). La combinación de esos plásmidos en una línea celular productora produce el vector viral. Sin embargo, los expertos en la técnica entenderán que para cualquier par dado de secuencias de repeticiones terminales invertidas en un plásmido de transferencia de la invención que se

usa para crear el vector viral, la secuencia correspondiente en el vector viral puede alterarse debido a que las ITR adoptan una orientación «flip» o «flop» durante la recombinación. Por tanto, la secuencia de la ITR en el plásmido de transferencia no es necesariamente la misma secuencia que se encuentra en el vector viral preparado a partir de esta.

5

Composiciones Farmacéuticas

Los polinucleótidos descritos en este documento (por ejemplo, un promotor SLC6A14 que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1) se puede unir operativamente a un transgén (por ejemplo, un transgén que codifica una proteína de interés, un ARNhc, un ASO o una nucleasa (por ejemplo, Cas9, TALEN, ZFN o ARNg), o un transgén que se puede transcribir para producir un microARN) e incorporarse a un vehículo para su administración a un paciente, tal como un paciente humano que sufre disfunción vestibular. Pueden prepararse composiciones farmacéuticas que contienen vectores, tales como vectores virales, que contienen un polinucleótido descrito en el presente documento unido operativamente a un transgén utilizando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, tales composiciones se pueden preparar usando, por ejemplo, portadores, excipientes o estabilizadores fisiológicamente aceptables (Remington: The Science and Practice of Pharmacology 22.a edición, Allen, L. Ed. (2013); incorporado a la presente mediante referencia), y en una forma deseada, por ejemplo, en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas.

Se puede preparar mezclas de vectores de ácido nucleico (por ejemplo, vectores virales) que contienen un promotor SLC6A14 descrito en la presente (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1) operativamente unido a un transgén en agua adecuadamente mezclada con una o más excipientes, portadores o diluyentes. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y mezclas de estos y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones pueden contener un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos. Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles (descritas en US 5,466,468, cuya descripción se incorpora a la presente mediante referencia). En cualquier caso, la formulación puede ser estéril y puede ser lo suficientemente fluida para que exista una fácil administración con jeringa. Las formulaciones pueden ser estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento y pueden preservarse frente a la acción

contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), mezclas adecuadas de estos y/o aceites vegetales. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede lograrse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasen la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Por ejemplo, una solución que contiene una composición farmacéutica descrita en la presente puede amortiguarse adecuadamente, si es necesario, y el diluyente líquido primero se vuelve isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. A este respecto, los expertos en la técnica conocerán los medios acuosos estériles que pueden emplearse a la luz de la presente descripción. Por ejemplo, se puede disolver una dosificación en 1 ml de solución de NaCl isotónica y agregarla a 1000 ml de fluido de hipodermóclisis o inyectarla en el punto de infusión sugerido. Necesariamente se producirá alguna variación en la dosificación dependiendo de la afección del sujeto que se está tratando. Para la administración local en el oído medio o interno, la composición se puede formular para que contenga una solución sintética de perilinfa. Un ejemplo de solución sintética de perilinfa incluye NaCl 20-200 mM, KCl 1-5 mM, CaCl_2 0,1-10 mM, glucosa 1-10 mM y HEPES 2-50 mM, con un pH entre alrededor de 6 y 9 y una osmolalidad de alrededor de 300 mOsm/kg. La persona responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la dosis apropiada para el sujeto individual. Además, para la administración a seres humanos, las preparaciones pueden cumplir con los estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza que requieren los estándares de la Oficina de productos biológicos de la FDA.

Métodos de tratamiento

Las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar disfunción vestibular mediante una variedad de vías, como administración local en el oído medio o interno (por ejemplo, administración en la perilinfa o endolinfa, como a través de la ventana oval, ventana redonda o canal semicircular (por ejemplo, el canal horizontal), o mediante inyección transtimpánica o intratimpánica, por ejemplo, administración a una célula ciliada o

célula de soporte vestibular), administración intravenosa, parenteral, intradérmica, transdérmica, intramuscular, intranasal, subcutánea, percutánea, intratraqueal, intraperitoneal, intraarterial, intravascular, por inhalación, perfusión, lavado y oral. La vía de administración más adecuada en cualquier caso dependerá de la composición particular administrada, el paciente, los métodos de formulación farmacéutica, los métodos de administración (por ejemplo, el tiempo de administración y la vía de administración), la edad del paciente, el peso corporal, el sexo, la gravedad de la enfermedad tratada, la dieta del paciente y la tasa de excreción del paciente. Las composiciones pueden administrarse una vez o más de una vez (por ejemplo, una vez al año, dos veces al año, tres veces al año, bimensualmente, mensualmente o quincenalmente).

Los sujetos que pueden tratarse como se describe en este documento son sujetos que tienen o se encuentran en riesgo de desarrollar disfunción vestibular. Las composiciones y métodos descritos en la presente pueden usarse para tratar sujetos que tienen o se encuentran en riesgo de desarrollar daño a las células ciliadas vestibulares (por ejemplo, daño relacionado con una enfermedad o infección, traumatismo craneoencefálico, fármacos ototóxicos (por ejemplo, aminoglucósidos) o envejecimiento), sujetos que tienen o se encuentran en riesgo de desarrollar disfunción vestibular (por ejemplo, mareos, vértigo, desequilibrio, vestibulopatía bilateral, hipofunción vestibular bilateral (también denominada hipofunción vestibular bilateral), oscilopsia o un trastorno del equilibrio), sujetos portadores de una mutación genética asociada con disfunción vestibular o sujetos con antecedentes familiares de disfunción vestibular hereditaria. En algunas modalidades, la enfermedad asociada con daño o pérdida de células ciliadas (por ejemplo, células ciliadas vestibulares) es una enfermedad o afección autoinmunitaria en la que una respuesta autoinmunitaria contribuye al daño o destrucción de las células ciliadas. Las enfermedades autoinmunitarias vinculadas a la disfunción vestibular incluyen enfermedad autoinmunitaria del oído interno (AIED, por sus siglas en inglés), poliarteritis nodosa (PAN), síndrome de Cogan, policondritis recidivante, lupus eritematoso sistémico (SLE, por sus siglas en inglés), granulomatosis de Wegener, síndrome de Sjögren y enfermedad de Behçet. Algunas afecciones infecciosas, como la enfermedad de Lyme y la sífilis, también pueden causar disfunción vestibular (por ejemplo, al desencadenar la producción de autoanticuerpos). Las infecciones virales, como la rubéola, el citomegalovirus (CMV), el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV, por sus siglas en inglés), el HSV tipos 1 y 2, el virus del Nilo Occidental (WNV, por sus siglas en inglés), el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus de la varicela zoster (VZV, por sus siglas en inglés), el sarampión y las paperas, también pueden causar disfunción vestibular. En algunas modalidades, el sujeto tiene disfunción vestibular que está asociada con la pérdida de células ciliadas (por ejemplo, células ciliadas vestibulares) o es el resultado de esta. En algunas modalidades, las composiciones y métodos descritos en este documento se pueden usar para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra

en riesgo de desarrollar oscilopsia. En algunas modalidades, las composiciones y métodos descritos en el presente documento se pueden usar para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar vestibulopatía bilateral. En algunas modalidades, las composiciones y métodos descritos en el presente documento se pueden usar para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un trastorno del equilibrio (por ejemplo, desequilibrio). Los métodos descritos en el presente documento pueden incluir una etapa de cribado de un sujeto para detectar una o más mutaciones en genes que se conoce que están asociados con la disfunción vestibular antes de la administración de las composiciones descritas en el presente documento o del tratamiento con estas. Se puede cribar un sujeto para detectar una mutación genética usando métodos estándar conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, pruebas genéticas). Los métodos descritos en el presente documento también pueden incluir una etapa de evaluación de la función vestibular en un sujeto antes de la administración de las composiciones descritas en el presente documento o del tratamiento con estas. La función vestibular puede evaluarse mediante pruebas estándar, como la prueba del movimiento ocular (por ejemplo, electronistagmograma (ENG) o videonistagmograma (VNG)), pruebas del reflejo vestibuloocular (VOR, por sus siglas en inglés) (por ejemplo, la prueba de impulso cefálico (prueba Halmagyi-Curthoys), que se puede realizar en la cabecera de la cama o mediante una prueba de impulso cefálico en vídeo (VHIT, por sus siglas en inglés), o la prueba de reflejo calórico), posturografía, prueba de silla giratoria, ECOG, potenciales evocados miogénicos vestibulares (VEMP, por sus siglas en inglés) y pruebas de equilibrio clínicas especializadas, como las descritas en Mancini y Horak, Eur J Phys Rehabil Med, 46:239 (2010). Estas pruebas también se pueden usar para evaluar la función vestibular en un sujeto después del tratamiento con las composiciones descritas en el presente documento o la administración de estas. Las composiciones y métodos descritos en el presente documento también se pueden administrar como tratamiento preventivo a pacientes con riesgo de desarrollar disfunción vestibular, por ejemplo, pacientes que tienen antecedentes familiares de disfunción vestibular (por ejemplo, disfunción vestibular heredada), pacientes portadores de una mutación genética asociada con disfunción vestibular que aún no presentan síntomas de disfunción vestibular, o pacientes expuestos a factores de riesgo de disfunción vestibular adquirida (por ejemplo, enfermedad o infección, traumatismo craneoencefálico, fármacos ototóxicos o envejecimiento). Las composiciones y métodos descritos en el presente documento también se pueden usar para tratar a un sujeto con disfunción vestibular idiopática.

Las composiciones y métodos descritos en este documento se pueden usar para inducir o aumentar la regeneración de las células ciliadas en un sujeto (por ejemplo, la regeneración de las células ciliadas vestibulares), y/o para inducir o aumentar la proliferación de células ciliadas vestibulares y/o VSC. Los sujetos que pueden beneficiarse de las composiciones que promueven o inducen la

regeneración de las células ciliadas vestibulares, la enervación de las células ciliadas vestibulares y/o la proliferación de células ciliadas vestibulares y/o VSC incluyen sujetos que tienen o se encuentran en riesgo de desarrollar disfunción vestibular como resultado de la pérdida de células ciliadas (por ejemplo, pérdida de células ciliadas vestibulares relacionada con traumatismo (por ejemplo, traumatismo craneoencefálico), enfermedad o infección, fármacos ototóxicos o envejecimiento), y sujetos con células ciliadas vestibulares anómalas (por ejemplo, células ciliadas vestibulares que no funcionan correctamente en comparación con células ciliadas vestibulares normales), células ciliadas vestibulares dañadas (por ejemplo, daño de las células ciliadas vestibulares relacionado con traumatismos (por ejemplo, traumatismo craneoencefálico), enfermedad o infección, fármacos ototóxicos o envejecimiento), o una cantidad reducida de células ciliadas vestibulares debido a mutaciones genéticas o anomalías congénitas. Las composiciones y métodos descritos en el presente documento también se pueden usar para promover o aumentar la maduración de las células ciliadas vestibulares, lo que puede conducir a una mejora en la función vestibular. En algunas modalidades, las composiciones y los métodos descritos en este documento promueven o aumentan la maduración de las células ciliadas vestibulares regeneradas (por ejemplo, promueven o aumentan la maduración de las células ciliadas vestibulares formadas en respuesta a la expresión de una composición descrita en este documento, como una composición que contiene un promotor SLC6A14 promotor operativamente unido a un transgén, en VSC). Las composiciones y métodos descritos en la presente también pueden promover o aumentar la supervivencia de las células ciliadas vestibulares y/o VSC y/o mejorar la función de VSC.

Las composiciones y métodos descritos en el presente documento también se pueden usar para prevenir o reducir la disfunción vestibular causada por daño o destrucción de las células ciliadas inducidos por fármacos ototóxicos (por ejemplo, daño o destrucción de las células ciliadas vestibulares) en sujetos que han sido tratados con fármacos ototóxicos, o que se encuentran actualmente en tratamiento o comenzarán a recibir tratamiento pronto con fármacos ototóxicos. Los fármacos ototóxicos son tóxicos para las células del oído interno y pueden causar disfunción vestibular (por ejemplo, vértigo, mareos, desequilibrio, vestibulopatía bilateral, hipofunción u oscilopsia). Los fármacos que se ha descubierto que son ototóxicos incluyen antibióticos aminoglucósidos (por ejemplo, gentamicina, neomicina, estreptomycin, tobramicina, kanamicina, vancomicina y amikacina), viomicina, fármacos antineoplásicos (por ejemplo, agentes quimioterapéuticos que contienen platino, como cisplatino, carboplatino y oxaliplatino), diuréticos del asa (por ejemplo, ácido etacrínico y furosemida), salicilatos (por ejemplo, aspirina, particularmente en dosis altas) y quinina. En algunas modalidades, los métodos y composiciones descritos en este documento pueden usarse para tratar la vestibulopatía bilateral. En algunas modalidades, los métodos y composiciones descritos en el presente documento se pueden usar para tratar vestibulopatía bilateral u oscilopsia debidas a ototoxicidad por aminoglucósidos (por ejemplo,

los métodos y composiciones descritos en este documento pueden usarse para reducir el daño o muerte de las células ciliadas vestibulares inducidos por aminoglucósidos, o para promover o aumentar la regeneración de las células ciliadas y/o proliferación de células ciliadas o VSC en un sujeto con vestibulopatía bilateral u oscilopsia inducidas por aminoglucósidos).

5 El transgén unido operativamente a un promotor SLC6A14 (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1) para el tratamiento de un sujeto como se describe en la presente puede ser un transgén que codifica una proteína expresada en VSC saludables (por ejemplo, una proteína que
10 desempeña un papel en el desarrollo de las células ciliadas vestibulares, especificación del destino de las células ciliadas vestibulares, regeneración de las células ciliadas vestibulares, proliferación de células ciliadas vestibulares y/o VSC, maduración de células ciliadas vestibulares o enervación de células ciliadas vestibulares, o una proteína que es deficiente en un sujeto con disfunción vestibular), otra proteína de interés (por ejemplo, una proteína terapéutica o una proteína indicadora, como una proteína
15 fluorescente, lacZ o luciferasa), un ARNhc, un ASO, una nucleasa o un microARN. El transgén puede seleccionarse en función de la causa de la disfunción vestibular del sujeto (por ejemplo, si la disfunción vestibular del sujeto está asociada con una mutación genética particular, el transgén puede ser una forma de tipo salvaje del gen que se encuentra mutado en el sujeto, o si el sujeto tiene disfunción vestibular asociada con la pérdida de células ciliadas, el transgén puede codificar una proteína que
20 promueve la regeneración de células ciliadas vestibulares, la enervación de células ciliadas vestibulares o la proliferación de células ciliadas vestibulares y/o VSC), la gravedad de la disfunción vestibular del sujeto, la salud de las células ciliadas del sujeto, la edad del sujeto, los antecedentes familiares de disfunción vestibular del sujeto u otros factores. Las proteínas que pueden ser expresadas por un transgén unido operativamente a un promotor SLC6A14 para el tratamiento de un sujeto como se
25 describe en el presente documento incluyen Sox9, Sall2, Camta1, Hey2, Gata2, Hey1, Lass2, Sox10, Gata3, Cux1, Nr2f1, Hes1, Rorb, Jun, Zfp667, Lhx3, Nhlh1, Mxd4, Zmiz1, Myt1, Stat3, Barhl1, Tox, Prox1, Nfia, Thrb, Mycl1, Kdm5a, Creb314, Etv1, Peg3, Bach2, Isl1, Zbtb38, Lbh, Tub, Hmg20, Rest, Zfp827, Aff3, Pknox2, Arid3b, Mlxip, Zfp532, Ikzf2, Sall1, Six2, Sall3, Lin28b, Rfx7, Bdnf, Gfi1, Pou4f3, Myc, Ctnnb1, Sox2, Sox4, Sox11, Tead2, Atoh1 y una variante de Atoh1 que contiene sustituciones en
30 los aminoácidos 328, 331 y/o 334 (por ejemplo, S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A y 328A/S331A/S334).

El tratamiento puede incluir la administración de una composición que contiene un vector de ácido nucleico (por ejemplo, un vector viral AAV) que contiene un promotor SLC6A14 descrito en el presente documento (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) en diversas dosis unitarias. Cada dosis unitaria

contendrá normalmente una cantidad predeterminada de la composición terapéutica. La cantidad a administrar, y la vía particular de administración y formulación, son conocidas por los expertos en la técnica clínica. No es necesario administrar una dosis unitaria con una inyección única, sino que puede incluir una infusión continua durante un período de tiempo establecido. La dosificación se puede realizar usando una bomba de jeringa para controlar la velocidad de infusión con el fin de minimizar el daño al oído interno (por ejemplo, el laberinto vestibular). En casos en los que los vectores de ácidos nucleicos son vectores AAV (por ejemplo, vectores AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, rh10, rh39, rh43, rh74, Anc80, Anc80L65, DJ/8, DJ/9, 7m8, PHP.B, PHP.eB o PHP.S), los vectores virales pueden administrársele al paciente en una dosis, por ejemplo, de alrededor de 1×10^9 genomas de vectores (VG, por sus siglas en inglés)/mL a alrededor de 1×10^{16} VG/mL (por ejemplo, 1×10^9 VG/mL, 2×10^9 VG/mL, 3×10^9 VG/mL, 4×10^9 VG/mL, 5×10^9 VG/mL, 6×10^9 VG/mL, 7×10^9 VG/mL, 8×10^9 VG/mL, 9×10^9 VG/mL, 1×10^{10} VG/mL, 2×10^{10} VG/mL, 3×10^{10} VG/mL, 4×10^{10} VG/mL, 5×10^{10} VG/mL, 6×10^{10} VG/mL, 7×10^{10} VG/mL, 8×10^{10} VG/mL, 9×10^{10} VG/mL, 1×10^{11} VG/mL, 2×10^{11} VG/mL, 3×10^{11} VG/mL, 4×10^{11} VG/mL, 5×10^{11} VG/mL, 6×10^{11} VG/mL, 7×10^{11} VG/mL, 8×10^{11} VG/mL, 9×10^{11} VG/mL, 1×10^{12} VG/mL, 2×10^{12} VG/mL, 3×10^{12} VG/mL, 4×10^{12} VG/mL, 5×10^{12} VG/mL, 6×10^{12} VG/mL, 7×10^{12} VG/mL, 8×10^{12} VG/mL, 9×10^{12} VG/mL, 1×10^{13} VG/mL, 2×10^{13} VG/mL, 3×10^{13} VG/mL, 4×10^{13} VG/mL, 5×10^{13} VG/mL, 6×10^{13} VG/mL, 7×10^{13} VG/mL, 8×10^{13} VG/mL, 9×10^{13} VG/mL, 1×10^{14} VG/mL, 2×10^{14} VG/mL, 3×10^{14} VG/mL, 4×10^{14} VG/mL, 5×10^{14} VG/mL, 6×10^{14} VG/mL, 7×10^{14} VG/mL, 8×10^{14} VG/mL, 9×10^{14} VG/mL, 1×10^{15} VG/mL, 2×10^{15} VG/mL, 3×10^{15} VG/mL, 4×10^{15} VG/mL, 5×10^{15} VG/mL, 6×10^{15} VG/mL, 7×10^{15} VG/mL, 8×10^{15} VG/mL, 9×10^{15} VG/mL o 1×10^{16} VG/mL) en un volumen de 1 μ L a 200 μ L (por ejemplo, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200 μ L). Los vectores AAV pueden administrársele al sujeto en una dosis de alrededor de 1×10^7 VG/oído a alrededor de 2×10^{15} VG/oído (por ejemplo, 1×10^7 VG/oído, 2×10^7 VG/oído, 3×10^7 VG/oído, 4×10^7 VG/oído, 5×10^7 VG/oído, 6×10^7 VG/oído, 7×10^7 VG/oído, 8×10^7 VG/oído, 9×10^7 VG/oído, 1×10^8 VG/oído, 2×10^8 VG/oído, 3×10^8 VG/oído, 4×10^8 VG/oído, 5×10^8 VG/oído, 6×10^8 VG/oído, 7×10^8 VG/oído, 8×10^8 VG/oído, 9×10^8 VG/oído, 1×10^9 VG/oído, 2×10^9 VG/oído, 3×10^9 VG/oído, 4×10^9 VG/oído, 5×10^9 VG/oído, 6×10^9 VG/oído, 7×10^9 VG/oído, 8×10^9 VG/oído, 9×10^9 VG/oído, 1×10^{10} VG/oído, 2×10^{10} VG/oído, 3×10^{10} VG/oído, 4×10^{10} VG/oído, 5×10^{10} VG/oído, 6×10^{10} VG/oído, 7×10^{10} VG/oído, 8×10^{10} VG/oído, 9×10^{10} VG/oído, 1×10^{11} VG/oído, 2×10^{11} VG/oído, 3×10^{11} VG/oído, 4×10^{11} VG/oído, 5×10^{11} VG/oído, 6×10^{11} VG/oído, 7×10^{11} VG/oído, 8×10^{11} VG/oído, 9×10^{11} VG/oído, 1×10^{12} VG/oído, 2×10^{12} VG/oído, 3×10^{12} VG/oído, 4×10^{12} VG/oído, 5×10^{12} VG/oído, 6×10^{12} VG/oído, 7×10^{12} VG/oído, 8×10^{12} VG/oído, 9×10^{12} VG/oído, 1×10^{13} VG/oído, 2×10^{13} VG/oído, 3×10^{13} VG/oído, 4×10^{13} VG/oído, 5×10^{13} VG/oído, 6×10^{13} VG/oído,

7 x 10¹³ VG/oído, 8 x 10¹³ VG/oído, 9 x 10¹³ VG/oído, 1 x 10¹⁴ VG/oído, 2 x 10¹⁴ VG/oído, 3 x 10¹⁴ VG/oído, 4 x 10¹⁴ VG/oído, 5 x 10¹⁴ VG/oído, 6 x 10¹⁴ VG/oído, 7 x 10¹⁴ VG/oído, 8 x 10¹⁴ VG/oído, 9 x 10¹⁴ VG/oído, 1 x 10¹⁵ VG/oído o 2 x 10¹⁵ VG/oído).

Las composiciones descritas en este documento se administran en una cantidad suficiente para

5 mejorar la función vestibular (por ejemplo, mejorar el equilibrio o reducir el mareo o el vértigo), tratar la vestibulopatía bilateral, tratar la oscilopsia, tratar un trastorno del equilibrio, aumentar la expresión de una proteína codificada por un transgén operativamente unido a un promotor SLC6A14, aumentar la función de una proteína codificada por un transgén operativamente unido a un promotor SLC6A14, promover o aumentar el desarrollo de células ciliadas, aumentar la cantidad de células ciliadas (por

10 ejemplo, promover o inducir la regeneración o proliferación de células ciliadas), aumentar o inducir la maduración de las células ciliadas (por ejemplo, la maduración de células ciliadas regeneradas), mejorar la función de las células ciliadas, mejorar la función de VSC, promover o aumentar la supervivencia de las VSC y/o las células ciliadas vestibulares y/o promover o aumentar la proliferación de VSC. La función vestibular se puede evaluar mediante pruebas estándar de equilibrio y vértigo (por ejemplo, prueba de

15 movimiento ocular (por ejemplo, ENG o VNG), prueba de VOR (por ejemplo, prueba de impulso cefálico (prueba de Halmagyi-Curthoys, por ejemplo, VHIT) o prueba de reflejo calórico), posturografía, prueba de silla giratoria, ECOG, VEMP y pruebas de equilibrio clínicas especializadas) y puede mejorarse en un 5 % o más (por ejemplo 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 125 %, 150 %, 200 % o más) en comparación con las mediciones obtenidas antes del tratamiento. Las

20 composiciones descritas en el presente documento también pueden administrarse en una cantidad suficiente para ralentizar o prevenir el desarrollo o la progresión de la disfunción vestibular (por ejemplo, en sujetos que tienen una mutación genética asociada con la disfunción vestibular, que tienen antecedentes familiares de disfunción vestibular (por ejemplo, disfunción vestibular hereditaria), o que han estado expuestos a factores de riesgo asociados con la disfunción vestibular (por ejemplo, fármacos

25 ototóxicos, traumatismo craneoencefálico o enfermedad o infección), pero que no presentan disfunción vestibular (por ejemplo, vértigo, mareos o desequilibrio), o en sujetos que presentan disfunción vestibular leve a moderada). La expresión de la proteína codificada por el transgén unido operativamente a un promotor SLC6A14 en el vector de ácido nucleico administrado al sujeto puede evaluarse mediante el uso de inmunohistoquímica, análisis de transferencia Western, PCR cuantitativa en tiempo real u otros

30 métodos conocidos en la técnica para la detección de proteínas o ARNm, y puede aumentar en 5 % o más (por ejemplo, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 125 %, 150 %, 200 % o más) en comparación con la expresión antes de la administración de una composición descrita en la presente. La cantidad de células ciliadas, la función de las células ciliadas, la maduración de las células ciliadas, la regeneración de las células ciliadas o la función de la proteína codificada por

el vector de ácido nucleico administrado al sujeto pueden evaluarse indirectamente en función de pruebas de función vestibular, y pueden incrementarse en 5 % o más (por ejemplo, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 125 %, 150 %, 200 % o más) en comparación con la cantidad de células ciliadas, la función de las células ciliadas, la maduración de las células ciliadas, la regeneración de las células ciliadas o la función de la proteína antes de la administración de una composición descrita en el presente documento o en comparación con un sujeto no tratado. Estos efectos pueden ocurrir, por ejemplo, dentro de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 15 semanas, 20 semanas, 25 semanas o más, tras la administración de las composiciones descritas en el presente documento. Se puede evaluar al paciente 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses o más después de la administración de la composición dependiendo de la dosis y vía de administración usada para el tratamiento. Dependiendo del resultado de la evaluación, el paciente puede recibir tratamientos adicionales.

15 Kits

Las composiciones descritas en el presente documento se pueden proporcionar en un kit para su uso en el tratamiento de la disfunción vestibular. Las composiciones pueden incluir un promotor SLC6A14 descrito en el presente documento (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1), vectores de ácido nucleico que contienen dichos polinucleótidos y vectores de ácido nucleico que contienen un polinucleótido descrito en la presente unido operativamente a un transgén que codifica una proteína de interés (por ejemplo, una proteína que puede expresarse en las VSC para tratar la disfunción vestibular). Los vectores de ácido nucleico se pueden empaquetar en una cápside de virus AAV (por ejemplo, AAV1, AAV2, AAV2quad (Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, Anc80, 7m8, PHP.B, PHP.eB o PHP.S). El kit puede incluir además un prospecto que instruya a un usuario del kit, tal como un médico, para realizar los métodos descritos en la presente. El kit puede incluir opcionalmente una jeringa u otro dispositivo para administrar la composición.

Ejemplos

Los ejemplos que siguen se presentan para proporcionar a las personas expertas en la técnica una descripción de cómo se pueden usar, elaborar y evaluar las composiciones y los métodos que se describen en el presente documento, y se pretende que sean puramente ilustrativos de la invención y no se pretende que limiten el alcance de lo que los inventores consideran su invención.

Ejemplo 1. Determinación de la actividad promotora de SLC6A14v2 y SLC6A14v3 en órganos vestibulares murinos *in vivo*

Para comparar la actividad de los promotores SLC6A14v2 y SLC6A14v3 *in vivo*, un promotor SLC6A14 humano (SEQ ID NO: 3) que impulsa la proteína de fusión H2B-GFP dirigida al núcleo (del plásmido P530; Figura 3) y un promotor SLC6A14 murino (SEQ ID NO: 1) que impulsa la proteína de fusión H2B-GFP dirigida al núcleo (del plásmido P919 (SEQ ID NO: 2); Figura 4) se empaquetaron por separado en AAV8 y se administró 1 µl de virus mediante inyección en el canal semicircular posterior de ratones C57BL/6 macho de ocho semanas de edad a una dosis de $2,0 \times 10^{10}$ vg/oído (n = 6 ratones por virus). Después de dos semanas, los animales se sacrificaron mediante CO₂ y se perfundieron con PBS seguido de formalina amortiguada neutra (NBF). Se extrajeron los huesos temporales, se microdisecionaron los utrículos y se realizó un inmunomarcado de fluorescencia para el marcador nuclear de células ciliadas Pou4f3 (1:200, sc-1980, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, EUA) y marcador nuclear de células de soporte Sox2 (1:200, AF2018, R&D Systems, Inc., Minneapolis, Minnesota, EUA).

Los órganos se montaron enteros en portaobjetos de vidrio y se obtuvieron imágenes en un microscopio confocal Zeiss LSM 800 (Figuras 1A-1C). Para cada utrículo, se recopiló una pila z de imágenes confocales con un objetivo de 20x/0,8 NA, que tiene suficiente campo de visión para capturar todo el utrículo. Cada pila z abarcaba la capa nuclear de las células ciliadas, la capa nuclear de las células de soporte y la capa mesenquimatosa con un espesor z establecido según el criterio de Nyquist. Las imágenes de las Figuras 1A-1C muestran regiones ampliadas de un único plano z dentro de la pila z a la profundidad indicada. La expresión de GFP nuclear se muestra en la capa nuclear de células de soporte dentro del epitelio sensorial (Figura 1A), la capa nuclear de células ciliadas dentro del epitelio sensorial (Figura 1B) y en la capa mesenquimatosa debajo del epitelio sensorial (Figura 1C). Se detectaron niveles comparables de expresión de GFP nuclear en la capa nuclear de células de soporte para ambos promotores. La expresión de GFP nuclear fue sustancialmente menor en la capa nuclear y el mesénquima de las células ciliadas; sin embargo, fue visible más marcado en el mesénquima con el promotor SLC6A14v2 (Figura 1C, fila superior) en comparación con el promotor SLC6A14v3 (Figura 1C, fila inferior).

Las mediciones cuantitativas de los núcleos que expresan GFP se realizaron utilizando un algoritmo automatizado para el recuento 3D en el software Imaris que determina la cantidad de núcleos positivos para GFP dentro de todo el utrículo, la intensidad de la fluorescencia de GFP y la copositividad para el inmunomarcado de Pou4f3 y/o Sox2. Se realizaron análisis estadísticos mediante el uso de GraphPad Prism.

El porcentaje de células de soporte con niveles detectables de GFP nuclear fue comparable entre

los promotores SLC6A14v2 y SLC6A14v3 (Figura 2A; los puntos en los diagramas de caja representan utrículos individuales). Sin embargo, la intensidad promedio de GFP nuclear en células de soporte con niveles detectables por encima de la referencia fue significativamente mayor para el promotor SLC6A14v3 en comparación con SLC6A14v2 (Figura 2B; los círculos en los diagramas de dispersión representan células individuales en todas las muestras, las líneas negras son el promedio de la población; $p < 0,0001$, prueba t de Student). Además, el porcentaje de núcleos de células ciliadas con niveles detectables de GFP por encima de la referencia fue significativamente mayor para el promotor SLC6A14v2 en comparación con SLC6A14v3 (Figura 2C; $p=0,001$, prueba t de Student), al igual que el porcentaje de todos los núcleos GFP+ que no eran células de soporte según lo determinado mediante inmunomarcaje Sox2 positivo (Figura 2D; $p = 0,022$; prueba t de Student).

Ejemplo 2. Administración de una composición que contiene un vector de ácido nucleico que contiene un promotor SLC6A14 a un sujeto con disfunción vestibular

Según los métodos descritos en el presente documento, un médico experto en la técnica puede tratar a un paciente, tal como un paciente humano, con disfunción vestibular para mejorar o restaurar la función vestibular. Con este fin, un médico experto en la técnica puede administrar al paciente humano una composición que contenga un vector AAV (por ejemplo, AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, Anc80, 7m8, PHP.B, PHP.eB o PHP.S) que contiene un promotor SLC6A14 (por ejemplo, un polinucleótido que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1) operativamente unido a un transgén que codifica una proteína terapéutica (por ejemplo, factor de transcripción BHLH atonal 1 (Atoh1)). En un ejemplo, el vector tiene una cápside de AAV8 y contiene los nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10. La composición que contiene el vector AAV puede administrarse al paciente, por ejemplo, mediante administración local en el oído interno (por ejemplo, inyección en un canal semicircular), para tratar la disfunción vestibular.

Después de la administración de la composición a un paciente, un médico experto en la técnica puede controlar la expresión de la proteína terapéutica codificada por el transgén y la mejora del paciente en respuesta a la terapia, mediante una variedad de métodos. Por ejemplo, un médico puede controlar la función vestibular del paciente mediante la realización de pruebas estándar como la electronistagmografía, videonistagmografía, las pruebas de VOR (por ejemplo, pruebas de impulso cefálico (prueba de Halmagyi-Curthoys, por ejemplo, VHIT) o pruebas de reflejo calórico), pruebas de rotación, potencial evocado miogénico vestibular o posturografía dinámica computarizada. Un hallazgo de que el paciente presenta una función vestibular mejorada en una o más de las pruebas después de

la administración de la composición en comparación con los resultados de las pruebas obtenidos antes de la administración de la composición indica que el paciente está respondiendo favorablemente al tratamiento. Las dosis posteriores pueden determinarse y administrarse según sea necesario.

5 En los párrafos enumerados a continuación se describen modalidades de ejemplo de la invención.

- E1. Un vector de ácido nucleico que comprende un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1.
- E2. El vector de ácido nucleico de cualquiera de E1, en donde el polinucleótido está operativamente unido a un transgén.
- E3. El vector de ácido nucleico de E2, en donde el transgén es un transgén heterólogo.
- E4. El vector de ácido nucleico de E2 o E3, en donde el transgén codifica una proteína, un ARN de horquilla corta (ARNhc), un oligonucleótido antisentido (ASO), una nucleasa o es un microARN.
- E5. El vector de ácido nucleico de E4, en donde el polinucleótido es capaz de dirigir la expresión específica de célula de soporte vestibular (VSC) de la proteína, ARNhc, ASO, nucleasa o microARN en una VSC de mamífero.
- E6. El vector de ácido nucleico de E5, en donde la VSC es una VSC humana.
- E7. El vector de ácido nucleico de cualquiera de E4-E6, en donde la proteína es el factor de transcripción 2 tipo Spalt (Sall2), activador de transcripción 1 de unión a Calmodulina (Camta1), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes con motivo YRPW 2 (Hey2), proteína de unión a Gata 2 (Gata2), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes con motivo YRPW 1 (Hey1), ceramida sintasa 2 (Lass2), SRY caja 10 (Sox10), proteína 3 de unión a GATA (Gata3), homeobox 1 tipo Cut (Cux1), miembro del grupo F de la subfamilia 2 de receptores nucleares (Nr2f1), factor de transcripción de familia BHLH relacionado con Hes (Hes1), receptor B huérfano relacionado con RAR (Rorb), subunidad del factor de transcripción AP-1 del protooncogén Jun (Jun), proteína 667 con dedo de zinc (Zfp667), homeobox LIM 3 (Lhx3), hélice-bucle-hélice nesciente 1 (Nhlh1), proteína de dimerización MAX 4 (Mxd4), proteína 1 de tipo que contiene MIZ con dedos de zinc (Zmiz1), factor de transcripción de mielina 1 (Myt1), transductor de señal y activador de transcripción 3 (Stat3), homeobox 1 de tipo BarH (Barhl1), caja de grupo de alta movilidad asociada a la selección de timocitos (Tox), Homeobox prospero 1 (Prox1), factor nuclear I A (Nfia), receptor beta de la hormona tiroidea (Thrb), factor de transcripción BHLH del protooncogén MYCL (Mycl1), lisina demetilasa 5A (Kdm5a), proteína 3

de unión al elemento de respuesta a CAMP de tipo 4 (Creb3l4), variante 1 de ETS (Etv1), 3 paternalmente expresada (Peg3), dominio BTB y homólogo de CNC 2 (Bach2), homeobox ISL LIM 1 (Isl1), 38 que contiene dedos de zinc y dominio BTB (Zbtb38), desarrollo de las extremidades y el corazón (Lbh), factor de transcripción bipartito Tubby (Tub), Ubiquitina C (Hmg20), factor de transcripción de silenciamiento de RE1 (Rest), proteína 827 con dedos de zinc (Zfp827), miembro 3 de la familia AF4/FMR2 (Aff3), homeobox 2 de PBX/anudada 1 (Pknx2), dominio de interacción rico en AT de 3B (Arid3b), proteína de interacción MLX (Mlxip), proteína con dedos de zinc (Zfp532), dedos de zinc 2 de la familia IKAROS (Ikzf2), factor de transcripción 1 tipo Spalt (Sall1), SIX Homeobox 2 (Six2), factor de transcripción 3 tipo Spalt (Sall3), homólogo B de Lin-28 (Lin28b), factor regulador X7 (Rfx7), factor neurotrófico derivado del cerebro (Bdnf), represor transcripcional del factor de crecimiento independiente 1 (Gfi1), POU clase 4 homeobox 3 (Pou4f3), factor de transcripción BHLH del protooncogén MYC (Myc), β -catenina (Ctnnb1), SRY-Box 2 (Sox2), SRY-Box 4 (Sox4), SRY-Box 11 (Sox11), factor de transcripción 2 del dominio TEA (Tead2), factor de transcripción BHLH atonal 1 (Atoh1) o una variante de Atoh1.

E8. El vector de ácido nucleico de E7, en donde la proteína es Atoh1.

E9. El vector de ácido nucleico de E7, en donde la variante de Atoh1 tiene una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A y S328A/S331A/S334.

E10. Vector de ácido nucleico de cualquiera de E2-E9, en donde el vector de ácido nucleico comprende además una primera repetición terminal invertida hacia 5' del polinucleótido; y hacia 3' del transgén y en orden 5' a 3', un elemento regulador postranscripcional opcional, una señal de poliadenilación y una segunda repetición terminal invertida.

E11. El vector de ácido nucleico de E10, que comprende los nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10, una primera repetición terminal invertida hacia 5' de los nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10, en donde la repetición terminal invertida 5' tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con los nucleótidos 1-130 de la SEQ ID NO: 10; y una segunda repetición terminal invertida hacia 3' de los nucleótidos 219-3831 de la SEQ ID NO: 10, en donde la repetición terminal invertida hacia 3' tiene al menos un 80 % de identidad de secuencia con los nucleótidos 3919-4048 de la SEQ ID NO: 10.

E12. El vector de ácido nucleico de E10, que comprende los nucleótidos 219-3822 de la SEQ ID NO: 11, una primera repetición terminal invertida hacia 5' de los nucleótidos 219-3822 de la SEQ ID NO: 11, en donde la repetición terminal invertida hacia 5' tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con los nucleótidos 1-130 de la SEQ ID NO: 11; y una segunda repetición terminal

invertida hacia 3' de los nucleótidos 219-3822 de la SEQ ID NO: 11, en donde la repetición terminal invertida hacia 3' tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con los nucleótidos 3910-4039 de la SEQ ID NO: 11.

- E13. El vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E12, en donde el vector de ácido nucleico es un vector viral, plásmido, cósmido o cromosoma artificial.
- E14. El vector de ácido nucleico de E13, en donde el vector de ácido nucleico es un vector viral seleccionado del grupo que consiste en un virus adenoasociado (AAV), un adenovirus y un lentivirus.
- E15. El vector de ácido nucleico de E14, en donde el vector viral es un vector AAV.
- E16. El vector de ácido nucleico de E15, en donde el vector AAV tiene una cápside de AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, rh10, rh39, rh43, rh74, Anc80, Anc80L65, DJ/8, DJ/9, 7m8, PHP.B, PHP.eB o PHP.S.
- E17. Una composición que comprende el vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16.
- E18. La composición de E17, que comprende además un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- E19. Un polinucleótido que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más, de identidad de secuencia) con respecto a la SEQ ID NO: 1 operativamente unido a un transgén.
- E20. El polinucleótido de cualquiera de E19, en donde el transgén es un transgén heterólogo.
- E21. El polinucleótido de E20, en donde el transgén codifica una proteína, un ARNhc, un ASO, una nucleasa o un microARN.
- E22. El polinucleótido de E21, en donde la proteína es Sox9, Sall2, Camta1, Hey2, Gata2, Hey1, Lass2, Sox10, Gata3, Cux1, Nr2f1, Hes1, Rorb, Jun, Zfp667, Lhx3, Nhlh1, Mxd4, Zmiz1, Myt1, Stat3, Barhl1, Tox, Prox1, Nfia, Thrb, Mycl1, Kdm5a, Creb314, Etv1, Peg3, Bach2, Isl1, Zbtb38, Lbh, Tub, Hmg20, Rest, Zfp827, Aff3, Pknx2, Arid3b, Mlxip, Zfp532, Ikzf2, Sall1, Six2, Sall3, Lin28b, Rfx7, Bdnf, Gfi1, Pou4f3, Myc, Ctnnb1, Sox2, Sox4, Sox11, Tead2, Atoh1 o una variante de AtoH1.
- E23. El polinucleótido de E22, en donde la proteína es Atoh1.
- E24. Una célula que comprende el polinucleótido de cualquiera de E19-E23 o el vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16.
- E25. La célula de E24, en donde la célula es una VSC de mamífero.
- E26. La célula de E25, en donde la VSC de mamífero es una VSC humano.
- E27. Un método para expresar un transgén en una VSC de mamífero, que comprende poner en contacto la VSC de mamífero con el vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la

composición de E17 o E18.

- E28. El método de E27, en donde el transgén se expresa específicamente en VSC.
- E29. El método de E27 o E28, en donde la VSC de mamífero es una VSC humana.
- 5 E30. Un método para tratar a un sujeto que tiene o está en riesgo de desarrollar disfunción vestibular, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- E31. El método de E30, en donde la disfunción vestibular comprende vértigo, mareos, desequilibrio, vestibulopatía bilateral (también conocida como hipofunción vestibular bilateral), oscilopsia o un trastorno del equilibrio.
- 10 E32. El método de E30 o E31, en donde la disfunción vestibular es disfunción vestibular relacionada con la edad, disfunción vestibular relacionada con traumatismo craneoencefálico, disfunción vestibular relacionada con enfermedad o infección o disfunción vestibular inducida por fármacos ototóxicos.
- E33. El método de cualquiera de E30-E32, en donde la disfunción vestibular está asociada con una mutación genética.
- 15 E34. El método de E30 o E31, en donde la disfunción vestibular es una disfunción vestibular idiopática.
- E35. Un método para inducir o aumentar la regeneración de las células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- 20 E36. Un método para inducir o aumentar la proliferación de VSC en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- E37. Un método para inducir o aumentar la proliferación de células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- 25 E38. Un método para inducir o aumentar la maduración de las células ciliadas vestibulares (por ejemplo, la maduración de las células ciliadas regeneradas) en un sujeto que lo necesite, el método comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- 30 E39. Un método para inducir o aumentar la enervación de las células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite, el método comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- E40. Un método para aumentar la supervivencia de las VSC y/o de las células ciliadas vestibulares en un sujeto que lo necesite, el método comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz del

vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de la E17 o E18.

- E41. El método de cualquiera de E35-E40, en donde el sujeto tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar disfunción vestibular (por ejemplo, vértigo, mareos, desequilibrio, vestibulopatía bilateral (hipofunción vestibular bilateral), oscilopsia o un trastorno del equilibrio).
- 5 E42. Un método para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar vestibulopatía bilateral (hipofunción vestibular bilateral), el método comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- 10 E43. Un método para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar oscilopsia, el método comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- E44. El método de E42 o E43, en donde la vestibulopatía bilateral o la oscilopsia es vestibulopatía bilateral inducida por fármacos ototóxicos u oscilopsia inducida por fármacos ototóxicos.
- E45. El método de E32 o E44, en donde el fármaco ototóxico se selecciona del grupo que consiste en 15 aminoglucósidos, fármacos antineoplásicos, ácido etacrínico, furosemida, salicilatos y quinina.
- E46. Un método para tratar a un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de desarrollar un trastorno del equilibrio, el método comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz del vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.
- 20 E47. El método de cualquiera de E30-E46, en donde el método comprende además evaluar la función vestibular del sujeto antes de administrar el vector de ácido nucleico o composición.
- E48. El método de cualquiera de E30-E47, en donde el método comprende además evaluar la función vestibular del sujeto después de administrar el vector de ácido nucleico o la composición.
- E49. El método de cualquiera de E30-E48, en donde el vector de ácido nucleico o la composición se administra localmente.
- 25 E50. El método de E49, en donde el vector de ácido nucleico o la composición se administra a un canal semicircular.
- E51. El método de E49, en donde el vector de ácido nucleico o la composición se administra transtimpánicamente o intratimpánicamente.
- E52. El método de E49, en donde el vector de ácido nucleico o la composición se administra en la 30 perilinfa.
- E53. El método de E49, en donde el vector de ácido nucleico o la composición se administra en la endolinfa.
- E54. El método de E49, en donde el vector de ácido nucleico o la composición se administra a la ventana oval o a través de esta.

- E55. El método de E49, en donde el vector de ácido nucleico o la composición se administra a la ventana redonda o a través de esta.
- 5 E56. El método de cualquiera de E30-E55, en donde el vector de ácido nucleico o la composición se administra en una cantidad suficiente para prevenir o reducir la disfunción vestibular, retrasar el desarrollo de la disfunción vestibular, retardar la progresión de la disfunción vestibular, mejorar la función vestibular, aumentar el número de células ciliadas vestibulares, aumentar la maduración de las células ciliadas vestibulares (por ejemplo, la maduración de las células ciliadas regeneradas), aumentar la proliferación de las células ciliadas vestibulares, aumentar la regeneración de las células ciliadas vestibulares, aumentar la enervación de las células ciliadas vestibulares, aumentar la proliferación de VSC, aumentar el número de VSC, aumentar la supervivencia de VSC, aumentar la supervivencia de las células ciliadas vestibulares o mejorar la función de VSC.
- 10 E57. El método de cualquiera de E30-E56, en donde el sujeto es un ser humano.
- 15 E58. Un kit que comprende el vector de ácido nucleico de cualquiera de E1-E16 o la composición de E17 o E18.

Otras modalidades

20 Diversas modificaciones y variaciones de la invención descrita serán evidentes para los expertos en la técnica, sin apartarse del alcance y espíritu de la invención. Aunque la invención se ha descrito en relación con modalidades específicas, debe entenderse que la invención tal como se reivindica no debe limitarse indebidamente a esas modalidades específicas. De hecho, se pretende que diversas modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la invención que sean evidentes para los expertos en la técnica se encuentren dentro del alcance de la invención. Otras modalidades se encuentran en las reivindicaciones.