

REIVINDICACIONES

1. Un polinucleótido de ADN que codifica la frataxina humana (*hFXN*) o un equivalente de ARN de la misma, en donde el polinucleótido tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 95 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1.
2. El polinucleótido de la reivindicación 1, en donde el polinucleótido tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 96% idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1.
3. El polinucleótido de la reivindicación 2, en donde el polinucleótido tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 97 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1.
4. El polinucleótido de la reivindicación 3, en donde el polinucleótido tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 98 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1.
5. El polinucleótido de la reivindicación 4, en donde el polinucleótido tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 99 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1.
6. El polinucleótido de la reivindicación 5, en donde el polinucleótido tiene la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1.
7. Un vector que comprende el polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde opcionalmente el vector es un plásmido, un vector de ADN, un vector de ARN, un virión o un vector viral.
8. El vector de la reivindicación 7, en donde el vector es un vector viral.
9. El vector de la reivindicación 8, en donde el vector viral se selecciona del grupo que consiste en un virus adenoasociado (AAV), un adenovirus, un lentivirus, un retrovirus, un poxvirus, un baculovirus, un virus del herpes simple, un virus vaccinia y un virus sintético.
10. El vector de la reivindicación 9, en donde el vector viral es un AAV.
11. El vector de la reivindicación 10, en donde el AAV comprende proteínas de la cápside de un serotipo de AAV seleccionado del grupo que consiste en AAV1, AAV2,

AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAVrh10 y AAVrh74.

12. El vector de la reivindicación 10 u 11, en donde el vector viral es un AAV pseudotipado.

13. El vector de la reivindicación 12, en donde el AAV pseudotipado es AAV2/8 o AAV2/9, opcionalmente en donde el AAV pseudotipado es AAV2/8.

14. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 10-13, en donde el AAV comprende una proteína de la cápside recombinante.

15. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 7-14, en donde el polinucleótido está operativamente unido a un promotor específico del músculo, opcionalmente en donde el promotor está situado en 5' con respecto al polinucleótido.

16. El vector de la reivindicación 15, en donde el promotor específico de músculo es un promotor de fosfoglicerato quinasa (PGK), un promotor de desmina, un promotor de creatina quinasa muscular, un promotor de cadena ligera de miosina, un promotor de cadena pesada de miosina, un promotor de troponina C cardíaca, un promotor de troponina I, un promotor de la familia de genes myoD, un promotor de actina alfa, un promotor de actina beta, un promotor de actina gamma o un promotor dentro del intrón 1 del homeodominio 3 similar al par ocular.

17. El vector de la reivindicación 16, en donde el promotor específico del músculo es un promotor PGK.

18. El vector de la reivindicación 17, en donde el promotor PGK tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 85 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 2.

19. El vector de la reivindicación 18, en donde el promotor PGK tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 2.

20. El vector de la reivindicación 19, en donde el promotor PGK tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 95 % idéntica al ácido nucleico de secuencia de SEQ ID NO: 2, opcionalmente en donde el promotor PGK tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 2.

21. El vector de la reivindicación 20, en donde el promotor PGK tiene el ácido

nucleico de SEQ ID NO: 2.

22. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 7-21, en donde el vector comprende además un sitio de poliadenilación (pA), opcionalmente en donde el pA está situado en 3' con respecto al polinucleótido.

23. El vector de la reivindicación 22, en donde el sitio pA comprende el sitio de poliadenilación tardía del virus de simio 40 (SV40), el sitio de poliadenilación temprana de SV40, el sitio de poliadenilación de β -globina humana o el sitio de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina.

24. El vector de la reivindicación 23, en donde el sitio pA comprende el sitio de poliadenilación tardía de SV40.

25. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 15-24, en donde el vector comprende además un intrón, opcionalmente en donde el intrón está situado en 3' con respecto al promotor y en 5' con respecto al polinucleótido.

26. El vector de la reivindicación 25, en donde el intrón es un intrón SV40.

27. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 10-26, en donde el AAV comprende además dos repeticiones terminales invertidas (ITR), en donde las dos ITR comprenden una primera ITR (ITR1) y una segunda ITR (ITR2), en donde ITR1 está posicionada en 5' con respecto al polinucleótido e ITR2 está posicionada 3' con respecto al polinucleótido para formar un casete que comprende la estructura ITR1-hFXN-ITR2.

28. El vector de la reivindicación 27, en donde la longitud del ácido nucleico entre ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 3,7 Kb a aproximadamente 4,3 Kb.

29. El vector de la reivindicación 28, en donde la longitud del ácido nucleico entre ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 3,8 Kb a aproximadamente 4,2 Kb.

30. El vector de la reivindicación 29, en donde la longitud del ácido nucleico entre ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 3,9 Kb a aproximadamente 4,1 Kb.

31. El vector de la reivindicación 30, en donde la longitud del ácido nucleico entre ITR1 e ITR2 es aproximadamente 4,0 Kb.

32. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 27-31, en donde la longitud del ácido nucleico entre e incluyendo ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 3,9 Kb a aproximadamente 4,7 Kb.

33. El vector de la reivindicación 32, en donde la longitud del ácido nucleico entre

e incluyendo ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 4,1 Kb a aproximadamente 4,5 Kb.

34. El vector de la reivindicación 33, en donde la longitud del ácido nucleico entre e incluyendo ITR1 e ITR2 es aproximadamente 4,3 Kb.

35. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 27-34, en donde las dos ITR son ITR de AAV serotipo 2.

36. Un plásmido que codifica el vector viral de cualquiera de las reivindicaciones 8-35.

37. El plásmido de la reivindicación 36, en donde el plásmido comprende además uno o más elementos espaciadores (SS).

38. El plásmido de la reivindicación 37, en donde uno o más SS no comprenden un marco de lectura abierto que tenga una longitud superior a 100 aminoácidos.

39. El plásmido de la reivindicación 37, en donde uno o más SS no comprenden sitios de unión de factores de transcripción procariotas.

40. El plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 37-39, en donde el vector comprende dos elementos espaciadores: un primer elemento espaciador (SS1) y un segundo elemento espaciador (SS2).

41. El plásmido de la reivindicación 40, en donde SS1 tiene una longitud de aproximadamente 1,0 Kb a aproximadamente 5,0 Kb.

42. El plásmido de la reivindicación 41, en donde SS1 tiene una longitud de aproximadamente 2,0 Kb a aproximadamente 5,0 Kb.

43. El plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 40-42, en donde SS2 tiene una longitud de aproximadamente 1,0 Kb a aproximadamente 5,0 Kb.

44. El plásmido de la reivindicación 43, en donde SS2 tiene una longitud de aproximadamente 2,0 Kb a aproximadamente 5,0 Kb.

45. El plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 37-44, en donde SS está situado en 5' con respecto a ITR1 y/o en 3' con respecto a ITR2.

46. El plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 40-44, en donde el SS1 está colocado en 5' con respecto a ITR1 y el SS2 está colocado en 3' con respecto a ITR2.

47. Una composición farmacéutica que comprende la composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, el vector de cualquiera de las reivindicaciones 7-35, o el plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 36-46 y un portador, diluyente o excipiente

farmacéuticamente aceptable.

48. Una molécula de ácido nucleico que comprende:

(i) una ITR1;

(ii) un *hFXN* o un equivalente de ARN del mismo; y

(iii) una ITR2;

en donde los componentes están unidos operativamente entre sí en una dirección de 5' a 3' como:

ITR1-*hFXN*-ITR2; y en donde la longitud del ácido nucleico entre ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 3,7 Kb a aproximadamente 4,3 Kb.

49. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 48, en donde la longitud del ácido nucleico entre ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 3,8 Kb a aproximadamente 4,2 Kb.

50. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 49, en donde la longitud del ácido nucleico entre ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 3,9 Kb a aproximadamente 4,1 Kb.

51. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 50, en donde la longitud del ácido nucleico entre ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 4,0 Kb.

52. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 48-51, en donde la longitud del ácido nucleico entre e incluyendo ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 3,9 Kb a aproximadamente 4,7 Kb.

53. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 52, en donde la longitud del ácido nucleico entre e incluyendo ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 4,1 Kb a aproximadamente 4,5 Kb.

54. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 53, en donde la longitud del ácido nucleico entre e incluyendo ITR1 e ITR2 es de aproximadamente 4,3 Kb.

55. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 48-54, en donde la molécula de ácido nucleico comprende, además:

(iv) un promotor eucariota (P_{Euk}),

en donde los componentes están unidos operativamente entre sí en una dirección de 5' a 3' como:

ITR1- P_{Euk} -*hFXN*-ITR2.

56. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 55, en donde P_{Euk} es un promotor específico de músculo.

57. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 56, en donde el promotor específico de músculo es un promotor PGK, un promotor de desmina, un promotor de creatina quinasa muscular, un promotor de cadena ligera de miosina, un promotor de cadena pesada de miosina, un promotor de troponina C cardíaca, un promotor de troponina I, un promotor de la familia de genes myoD, un promotor de actina alfa, un promotor de actina beta, un promotor de actina gamma o un promotor dentro del intrón 1 del homeodominio 3 similar al par ocular, un promotor de citomegalovirus o un promotor de β -actina de pollo.

58. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 57, en donde el promotor específico del músculo es un promotor PGK.

59. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 58, en donde el promotor PGK tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 85 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 2.

60. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 59, en donde el promotor PGK tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 90 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 2.

61. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 60, en donde el promotor PGK tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 95 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 2, opcionalmente en donde el promotor PGK tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 2.

62. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 61, en donde el promotor PGK tiene el ácido nucleico de SEQ ID NO: 2.

63. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 55-62, en donde la molécula de ácido nucleico comprende, además:

(v) un pA,

en donde los componentes están unidos operativamente entre sí en una dirección de 5' a 3' como:

ITR1- P_{Euk} -hFXN-pA-ITR2.

64. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 63, en donde el sitio pA

comprende el sitio de poliadenilación tardía del virus de simio SV40, el sitio de poliadenilación temprana de SV40, el sitio de poliadenilación de β -globina humana o el sitio de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina.

65. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 64, en donde el sitio pA comprende el sitio de poliadenilación tardía de SV40.

66. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 63-65, en donde la molécula de ácido nucleico comprende, además:

(vi) un intrón,

en donde los componentes están unidos operativamente entre sí en una dirección de 5' a 3' como:

ITR1-P_{Euk}-intrón-hFXN-pA-ITR2.

67. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 66, en donde el intrón es un intrón SV40.

68. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 48-67, en donde el hFXN, o un equivalente de ARN del mismo, codifica una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 85 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

69. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 68, en donde el hFXN, o un equivalente de ARN del mismo, codifica una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

70. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 69, en donde el hFXN, o un equivalente de ARN del mismo, codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

71. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 48-70, en donde el hFXN, o un equivalente de ARN del mismo, tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 85 % idéntica al ácido nucleico de secuencia de SEQ ID NO: 1.

72. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 71, en donde el hFXN o un equivalente de ARN del mismo, tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 90 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 1.

73. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 72, en donde el hFXN o un

equivalente de ARN del mismo, tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 95 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 1.

74. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 73, en donde el hFXN o un equivalente de ARN del mismo, tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 97 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 1.

75. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 74, en donde el hFXN o un equivalente de ARN del mismo, tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 98 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 1.

76. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 75, en donde el hFXN o un equivalente de ARN del mismo, tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 99 % idéntica al ácido nucleico de la secuencia de SEQ ID NO: 1.

77. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 76, en donde el hFXN, o un equivalente de ARN del mismo, tiene la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 1.

78. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 48-77, en donde opcionalmente el vector es un plásmido, un vector de ADN, un vector de ARN, un virión o un vector viral.

79. El vector de la reivindicación 78, en donde el vector es un vector viral.

80. El vector de la reivindicación 79, en donde el vector viral se selecciona del grupo que consiste en un AAV, un adenovirus, un lentivirus, un retrovirus, un poxvirus, un baculovirus, un virus del herpes simple, un virus vaccinia y un virus sintético.

81. El vector de la reivindicación 80, en donde el vector viral es un AAV.

82. El vector de la reivindicación 81, en donde el AAV comprende proteínas de la cápside de un serotipo de AAV seleccionado del grupo que consiste en AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAVrh10 y AAVrh74.

83. El vector de la reivindicación 81 u 82, en donde el vector viral es un AAV pseudotipado.

84. El vector de la reivindicación 83, en donde el AAV pseudotipado es AAV2/8 o AAV2/9, opcionalmente en donde el AAV pseudotipado es AAV2/8.

85. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 78-84, en donde la ITR1 y/o ITR2 es una ITR parvoviral.

86. El vector de la reivindicación 85, en donde la ITR parvoviral es una ITR de

AAV.

87. El vector de la reivindicación 86, en donde la ITR de AAV es una ITR de serotipo 2 de AAV.

88. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 81-87, en donde el AAV comprende una proteína de la cápside recombinante.

89. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 7-35 y 78-88, en donde el vector tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 85 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 4.

90. El vector de la reivindicación 89, en donde el vector tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 4.

91. El vector de la reivindicación 90, en donde el vector tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 95 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 4, opcionalmente en donde el vector tiene una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 4.

92. El vector de la reivindicación 91, en donde el vector tiene el ácido nucleico de SEQ ID NO: 4.

93. Un plásmido que codifica el vector viral de cualquiera de las reivindicaciones 79-92.

94. El plásmido de la reivindicación 93, en donde el plásmido comprende además uno o más SS, en donde uno o más SS están situados en 5' con respecto a ITR1 y/o 3' con respecto a ITR2.

95. El plásmido de la reivindicación 94, en donde el plásmido comprende dos SS, en donde los dos SS comprenden un SS1 y un SS2, en donde SS1 está situado en 5' con respecto a ITR1 y SS2 está situado en 3' con respecto a ITR2.

96. El plásmido de la reivindicación 94 o 95, en donde uno o más SS no comprenden un marco de lectura abierto que tenga una longitud superior a 100 aminoácidos.

97. El plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 94-96, en donde uno o más SS no comprenden sitios de unión de factores de transcripción procariotas.

98. El plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 95-97, en donde SS1 tiene

una longitud de aproximadamente 1,0 Kb a aproximadamente 5,0 Kb.

99. El plásmido de la reivindicación 98, en donde SS1 tiene una longitud de aproximadamente 2,0 Kb a aproximadamente 5,0 Kb.

100. El plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 95-99, en donde SS2 tiene una longitud de aproximadamente 1,0 Kb a aproximadamente 5,0 Kb.

101. El plásmido de la reivindicación 100, en donde SS2 tiene una longitud de aproximadamente 2,0 Kb a aproximadamente 5,0 Kb.

102. El plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 95-101, en donde el plásmido comprende además un promotor procariota unido operativamente a un gen marcador seleccionable posicionado en 5' con respecto uno o más SS posicionados en 5' con respecto a ITR1 o posicionados en 3' con respecto a uno o más SS posicionados en 3' con respecto a ITR2.

103. El plásmido de la reivindicación 102, en donde el gen marcador seleccionable es un gen de resistencia a antibióticos.

104. El plásmido de la reivindicación 102 o 103, en donde el plásmido comprende además un origen de replicación procariota posicionado en 5' con respecto a uno o más SS posicionados en 5' con respecto a ITR1 y/o posicionado en 3' con respecto a uno o más SS posicionados en 3' con respecto a ITR2.

105. Una composición farmacéutica que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 48-77, el vector de cualquiera de las reivindicaciones 78-92, o el plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 93-104 y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

106. Un método para tratar la Ataxia de Friedreich en un paciente humano que lo necesita, donde el método comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y 48-77, el vector de cualquiera de las reivindicaciones 7-35 y 78-92, el plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 36-46 y 93-104, o la composición farmacéutica de la reivindicación 47 o 105.

107. Un método para aumentar la expresión de frataxina en un paciente humano diagnosticado con Ataxia de Friedreich, donde el método comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones

1-6 y 48-77, el vector de cualquiera de las reivindicaciones 7-35 y 78-92, el plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 36-46 y 93-104, o la composición farmacéutica de la reivindicación 47 o 105.

108. El método de la reivindicación 106 o 107, en donde el paciente tiene entre 3 y 17 años de edad.

109. El método de cualquiera de las reivindicaciones 106-108, en donde tras la administración del ácido nucleico, vector, plásmido o composición farmacéutica al paciente, el paciente presenta un aumento en el nivel de frataxina en sangre total, opcionalmente en donde el paciente presenta el aumento en el nivel de frataxina en sangre total aproximadamente 12 semanas después de la administración.

110. El método de cualquiera de las reivindicaciones 106-109, en donde tras la administración del ácido nucleico, vector, plásmido o composición farmacéutica al paciente, el paciente presenta una reducción en la puntuación total de la escala de calificación de ataxia de Friedreich, opcionalmente en donde el paciente presenta la reducción en la puntuación total FARS aproximadamente 12 semanas después de la administración.

111. Un kit que comprende (i) el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y 48-77, el vector de cualquiera de las reivindicaciones 7-35 y 78-92, el plásmido de cualquiera de las reivindicaciones 36-46 y 93-104, o la composición farmacéutica de la reivindicación 47 o 105, y (ii) un prospecto, en donde el prospecto indica a un usuario del kit que administre el ácido nucleico, vector, plásmido o composición farmacéutica a un paciente humano diagnosticado con ataxia de Friedreich.