

REIVINDICACIONES

1. Una partícula de virus adenoasociado recombinante (rAAV) que comprende (1) un vector de rAAV que comprende un casete de expresión para expresar un polipéptido de arilsulfatasa A (ARSA), en donde el casete de expresión comprende un gen que codifica el polipéptido ARSA unido operativamente a un promotor y opcionalmente un potenciador, y (2) una proteína de la cápside del AAV9 modificada que comprende un péptido de direccionamiento que tiene la SEQ ID NO: 10.
2. La partícula de rAAV de la reivindicación 1, en donde el polipéptido ARSA comprende la SEQ ID NO: 1.
3. La partícula de rAAV de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el péptido de direccionamiento está flanqueado por secuencias conectoras en su extremo aminoterminal y el extremo carboxiterminal.
4. La partícula de rAAV de la reivindicación 3, en donde las secuencias combinadas del péptido de direccionamiento y el conector comprenden la SEQ ID NO: 11.
5. La partícula de rAAV de una cualquiera de la reivindicación 1-4, en donde la proteína de la cápside modificada tiene una secuencia que es al menos un 98.5 % idéntica a la SEQ ID NO: 12.
6. La partícula de rAAV de la reivindicación 5, en donde la proteína de la cápside modificada comprende una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 12.
7. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el casete de expresión comprende un gen ARSA con codones optimizados de la SEQ ID NO: 2.
8. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el vector de rAAV comprende una ITR en 5' del AAV2 de la SEQ ID NO: 4 y una ITR en 3' del AAV2 de la SEQ ID NO: 5.
9. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el casete de expresión comprende un elemento potenciador de CMV que comprende la SEQ ID NO: 6.
10. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en donde el casete de expresión comprende un promotor de la actina β de pollo que comprende la SEQ ID NO: 7.
11. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el vector de rAAV comprende además un elemento WPRE.
12. La partícula de rAAV de la reivindicación 11, en donde el elemento WPRE comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 8.
13. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el vector de rAAV comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 16.
14. Un método de tratamiento de la leucodistrofia metacromática (MLD) en un paciente humano que lo necesita, que comprende administrar en el líquido cefalorraquídeo (LCR) del paciente

una composición que comprende una cantidad eficaz de la partícula vírica del virus adenoasociado recombinante (rAAV) de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13.

15. El método de la reivindicación 14, en donde la composición se administra directamente en el LCR del paciente mediante una administración intracerebroventricular (ICV).

16. El método de la reivindicación 14, en donde la composición se administra directamente en el LCR del paciente mediante una administración directa en la cisterna magna (dCM).

17. El método de la reivindicación 14, en donde la composición se administra directamente en el LCR del paciente mediante un microcatéter intratecal (IT-CM).

18. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-17, en donde la composición se administra una única vez durante la vida del paciente.

19. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-17, en donde la composición se administra una única vez al año al paciente.

20. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-19, en donde dicha administración aumenta la actividad de la ARSA en al menos un 5 % en el paciente.

21. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-19, en donde dicha administración aumenta la actividad de la ARSA en al menos un 10 % en el paciente.

22. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-19, en donde dicha administración aumenta la actividad de la ARSA en al menos un 20 % en el paciente.

23. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-19, en donde dicha administración aumenta la actividad de la ARSA en al menos un 30 % en el paciente.

24. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-19, en donde dicha administración aumenta la actividad de la ARSA en al menos un 50 % en el paciente.

25. Un método para aumentar la expresión y/o la actividad de la ARSA en un individuo que lo necesita, que comprende administrar en el líquido cefalorraquídeo (LCR) del paciente una composición que comprende una cantidad eficaz de la partícula vírica del virus adenoasociado recombinante (rAAV) de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13.

26. Un plásmido que comprende la SEQ ID NO: 3.

27. Una secuencia de la ARSA humana con codones optimizados que comprende la SEQ ID NO: 2.

28. Un casete de expresión que comprende una secuencia de la ARSA humana con codones optimizados que comprende la SEQ ID NO: 2.

29. El casete de expresión de la reivindicación 28, que comprende además un promotor de la actina β de pollo que comprende la SEQ ID NO: 7.

30. El casete de expresión de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, que comprende además un elemento potenciador de CMV que comprende la SEQ ID NO: 6.

31. Un vector que comprende un casete de expresión de una cualquiera de las reivindicaciones 27-30.

32. El vector de la reivindicación 31, que comprende además un elemento WPRE que comprende la SEQ ID NO: 8.

33. Una composición farmacéutica que comprende partículas de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13.

34. Un kit que comprende la composición farmacéutica de la reivindicación 33.

35. Una partícula de virus adenoasociado recombinante (rAAV) que comprende (1) un vector de rAAV que comprende un casete de expresión para expresar un polipéptido de arilsulfatasa A (ARSA), en donde el casete de expresión comprende un gen que codifica el polipéptido ARSA unido operativamente a un promotor y opcionalmente un potenciador, y (2) una proteína de la cápside del AAV9 modificada que comprende un péptido de direccionamiento que tiene la SEQ ID NO: 10 para su uso en el tratamiento de la MLD.

36. La partícula de rAAV de la reivindicación 35, en donde el polipéptido ARSA comprende la SEQ ID NO: 1.

37. La partícula de rAAV de la reivindicación 35 o la reivindicación 36, en donde el péptido de direccionamiento está flanqueado por secuencias conectoras en su extremo aminoterminal y el extremo carboxiterminal.

38. La partícula de rAAV de la reivindicación 37, en donde las secuencias combinadas del péptido de direccionamiento y el conector comprenden una SEQ ID NO: 11.

39. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-38, en donde la proteína de la cápside del AAV9 modificada es una proteína de la cápside VP3 modificada.

40. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-38, en donde la proteína de la cápside VP3 modificada tiene una secuencia que es al menos un 98.5 % idéntica a la SEQ ID NO: 12.

41. La partícula de rAAV de la reivindicación 40, en donde la proteína de la cápside VP3 modificada comprende una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 12.

42. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-38, en donde las proteínas de la cápside VP1, VP2 y VP3 son proteínas de la cápside del AAV9 no modificadas.

43. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-42, en donde el casete de expresión comprende un gen ARSA con codones optimizados de la SEQ ID NO: 2.

44. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-43, en donde el vector de rAAV comprende una ITR en 5' del AAV2 de la SEQ ID NO: 4 y una ITR en 3' del AAV2 de la SEQ ID NO: 5.

45. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-44, en donde el casete de expresión comprende un elemento potenciador de CMV que comprende la SEQ ID NO: 6.

46. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-45 en donde el casete de expresión comprende un promotor de la actina β de pollo que comprende la SEQ ID NO: 7.

47. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-46, en donde el vector de rAAV comprende además un elemento WPRE.

48. La partícula de rAAV de la reivindicación 47, en donde el elemento WPRE tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 8.

49. La partícula de rAAV de una cualquiera de las reivindicaciones 35-48, en donde el vector de rAAV tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 16.