

Reivindicaciones

1. Un vector de terapia génica recombinante que comprende un polinucleótido enlazado operativamente a un promotor, en donde el vector es un virus adenoasociado (AAV) y el polinucleótido codifica la quinasa 1 inducida por PTEN (PINK1) y tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
2. El vector de terapia génica recombinante de la reivindicación 1, en donde el polinucleótido que codifica PINK1 tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
3. El vector de terapia génica recombinante de la reivindicación 1, en donde el polinucleótido que codifica PINK1 tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
4. El vector de terapia génica recombinante de la reivindicación 1, en donde el polinucleótido que codifica PINK1 tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
5. El vector de terapia génica recombinante de la reivindicación 1, en donde el polinucleótido que codifica PINK1 tiene una secuencia de la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
6. El vector de terapia génica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el vector es un virus adenoasociado de serotipo 1 (AAV1).
7. El vector de terapia génica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el promotor se selecciona del grupo que consiste en hSYNI (sinapsina humana), INA (alfa-internexina), NES (nestina), hTH (tirosina hidroxilasa

humana), FOXA2 (Forkhead box A2), CaMKII (proteína quinasa dependiente de calmodulina II), NSE (enolasa específica neuronal), CMV, CAG, UBC, PGK, EFl-alpha, GAPDH, SV40, HBV, beta-actina de pollo, y promotores de beta-actina humana.

8. El vector de terapia génica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende además uno o más elementos reguladores.
9. El vector de terapia génica de la reivindicación 8, en donde el uno o más elementos reguladores se seleccionan del grupo que consiste en potenciadores, intrones, secuencia de señal poli-A y elementos estabilizantes de transcripción.
10. El vector de terapia génica de la reivindicación 9, en donde los potenciadores se seleccionan del grupo que consiste en el potenciador de CMV, potenciador GAPDH, potenciador de β -actina y potenciador de EF1- α .
11. El vector de terapia génica de la reivindicación 9, en donde los elementos estabilizadores de la transcripción se seleccionan del grupo que consiste en una secuencia WPRE (elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis de la marmota), una secuencia HPRE (elemento regulador postranscripcional de la hepatitis), una región de unión de supercóntigo, una UTR 3' y una UTR 5'.
12. El vector de terapia génica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende un casete de expresión que comprende en orden de 5' to 3': a) el promotor CAG y el polinucleótido que codifica PINK1; b) promotor CAG, polinucleótido que codifica PINK1 y WPRE; c) promotor hTH y polinucleótido que codifica PINK1; d) promotor EF1a y polinucleótido que codifica PINK1; e) promotor

EF1a, polinucleótido que codifica PINK1 y WPRE; f) promotor CBA y polinucleótido que codifica PINK1; o g) promotor CBA, polinucleótido que codifica PINK1 y WPRE.

13. Una célula huésped que comprende el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12.
14. La célula huésped de la reivindicación 13, que se selecciona del grupo que consiste en células HEK293, 293T, HeLa, Vero y Sf9.
15. Un método para aumentar la expresión de PINK1 en células en un sujeto al poner en contacto las células con el vector de terapia génica recombinante de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12.
16. El método de la reivindicación 15, en donde las células son neuronas.
17. El método de la reivindicación 16, en donde las neuronas son neuronas primarias positivas para tirosina hidroxilasa.
18. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 15–17, en donde el sujeto es un sujeto humano.
19. El método de la reivindicación 18, en donde el sujeto humano comprende una mutación en el gen PINK1.
20. El método de la reivindicación 18 o 19, en donde el sujeto humano padece o está en riesgo de desarrollar la enfermedad de Parkinson (PD).
21. El método de la reivindicación 20, en donde la PD es una PD de aparición temprana.
22. El método de la reivindicación 20, en donde la PD es una PD autosómica recesiva de aparición temprana.

23. Un método para inhibir, reducir, o retrasar la degeneración o muerte de neuronas de un sujeto al poner en contacto las neuronas con el vector de terapia génica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, lo que aumenta el nivel de expresión de PINK1 en las neuronas e inhibe, reduce, o retrasa la disfunción/degeneración o muerte de las neuronas.
24. El método de la reivindicación 23, en donde el sujeto es un sujeto humano.
25. El método de la reivindicación 23 o 24, en donde las neuronas son una neurona de tirosina hidroxilasa primaria.
26. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 23-25, en donde la neurodegeneración inducida por MPP (1-metil-4-fenilpiridinio) se atenúa en el sujeto.
27. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 23-25, en donde se evita la pérdida de neuronas inducida por MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina) en el sujeto.
28. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 24–27, en donde el sujeto humano comprende una mutación en el gen PINK1.
29. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 24–28, en donde el sujeto humano padece o está en riesgo de desarrollar la enfermedad de Parkinson (PD).
30. El método de la reivindicación 29, en donde la PD es una PD de aparición temprana.
31. El método de la reivindicación 29, en donde la PD es una PD autosómica recesiva de aparición temprana.

32. Un polinucleótido que codifica PINK1 y tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
33. El polinucleótido de la reivindicación 32, en donde el polinucleótido tiene al menos 95 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
34. El polinucleótido de la reivindicación 32, en donde el polinucleótido tiene al menos 98 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
35. El polinucleótido de la reivindicación 32, en donde el polinucleótido que codifica PINK1 tiene al menos 99 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
36. El polinucleótido de la reivindicación 32, en donde el polinucleótido que codifica PINK1 tiene una secuencia de la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
37. Un plásmido que comprende el polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 32-36.
38. Un vector de terapia génica recombinante que comprende un polinucleótido variante que codifica PINK1, en donde una célula transducida con el vector expresa PINK1 a un nivel más alto en comparación con el nivel de PINK1 expresado en una célula del mismo tipo que se transduce con un vector del mismo tipo que comprende un polinucleótido silvestre que codifica PINK1.
39. Un método para aumentar la expresión de PINK1 en células en un sujeto, el método comprende poner en contacto las células con un vector de terapia génica recombinante que comprende un polinucleótido variante que codifica PINK1, en donde la expresión de PINK1 en las células aumenta en relación con la expresión de PINK1 en células del mismo tipo que se ponen en contacto en

las mismas condiciones con la misma cantidad de un vector del mismo tipo que comprende un polinucleótido silvestre que codifica PINK1.

40. Un método para inhibir, reducir o retrasar la disfunción/degeneración o la muerte de neuronas en un sujeto, el método comprende poner en contacto las neuronas con un vector de terapia génica recombinante que comprende un polinucleótido variante que codifica PINK1, en donde la expresión de PINK1 en las neuronas aumenta en relación con la expresión de PINK1 en neuronas del mismo tipo que se ponen en contacto en las mismas condiciones con la misma cantidad de un vector del mismo tipo que comprende un polinucleótido silvestre que codifica PINK1.
41. El vector o método de una cualquiera de las reivindicaciones 38-40, en donde el polinucleótido variante se une operativamente a un promotor.
42. El vector o método de una cualquiera de las reivindicaciones 38-40, en donde cada uno de los polinucleótidos variantes y el polinucleótido silvestre está enlazado operativamente a un promotor del mismo tipo.
43. El vector o método de una cualquiera de las reivindicaciones 38-42, en donde el vector es un virus adenoasociado (AAV).
44. El vector o método de una cualquiera de las reivindicaciones 38-43, en donde el PINK1 se expresa al menos aproximadamente 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 o 2 veces más por células o neuronas en contacto o transducidas con el vector que comprende el polinucleótido variante que codifica PINK1 en comparación con células o neuronas puestas en contacto o transducidas con el vector que comprende el polinucleótido silvestre que codifica PINK1.

45. El vector o método de una cualquiera de las reivindicaciones 38-44, en donde el polinucleótido variante que codifica PINK1 tiene al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 % o al menos aproximadamente 90 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
46. El vector o método de una cualquiera de las reivindicaciones 38-45, en donde la célula es una neurona.
47. El vector o método de la reivindicación 46, en donde la neurona se selecciona del grupo que consiste en neuronas corticales, células endodiales, neuronas glutamatérgica, neuronas gabaérgicas, neuronas dopaminérgicas, oligodendrocitos, astrocitos y células microgliales.
48. Un método para inhibir, reducir o retrasar la degeneración o muerte de neuronas en un sujeto, el método comprende poner en contacto las neuronas con una cantidad de vector de terapia génica recombinante que comprende un polinucleótido que codifica PINK1, en donde la cantidad de vector es una cantidad efectiva para inhibir, reducir o retrasar la degeneración o muerte de neuronas en el sujeto.
49. El método de la reivindicación 48, en donde las neuronas se ponen en contacto con una cantidad de vector correspondiente a una multiplicidad de infección (MOI) de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10^5 .
50. El método de la reivindicación 48, en donde las neuronas se ponen en contacto con una cantidad de vector correspondiente a una MOI de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 10^4 .
51. El método de la reivindicación 48, en donde las neuronas se ponen en contacto con una cantidad de vector correspondiente a una MOI de aproximadamente 1,

aproximadamente 10, aproximadamente 10^1 , aproximadamente 10^2 ,
aproximadamente 10^3 , aproximadamente 10^4 o aproximadamente 10^5 .

52. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48–51, en donde el polinucleótido está unido operativamente a un promotor.
53. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48–51, en donde el polinucleótido es un polinucleótido variante.
54. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48-53, en donde el vector es un virus adenoasociado (AAV).
55. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48-54, en donde el polinucleótido variante que codifica PINK1 tiene al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 % o al menos aproximadamente 90 % de identidad con la SEQ ID NO.: 2 o la SEQ ID NO.: 3.
56. El método de la reivindicación 56, en donde la neurona se selecciona del grupo que consiste en neuronas corticales, células ependimales, neuronas glutamatérgica, neuronas gabaérgicas, neuronas dopaminérgicas, oligodendrocitos, astrocitos y células microgliales.