

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico que comprende una primera repetición terminal invertida (ITR) y una segunda ITR que flanquean un casete genético que comprende un promotor y una secuencia de polinucleótidos heteróloga que codifica:

(A) un factor de crecimiento, una hormona, una citocina, o un anticuerpo o fragmento funcional del mismo; y/o

(B) un gen seleccionado de distrofina ligada a X, MTM1 (miotubularina), tirosina hidroxilasa, AADC, ciclohidrolasa, SMN1, FXN (frataxina), GUCY2D, RS1, CFH, HTRA, ARMS, CFB/CC2, CNGA/CNGB, Prf65, ARSA, PSAP, IDUA (MPS I), IDS (MPS II), PAH, GAA (alfa-glucosidasa ácida), y cualquier combinación de los mismos; y/o

(C) un miARN que regula por disminución la expresión de un gen diana seleccionado entre SOD1, HTT, RHO, y cualquier combinación de los mismos;

en donde la primera ITR consiste de una secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 180 y la segunda ITR consiste de una secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 181; o la primera ITR consiste de la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 183 y la segunda ITR consiste de la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 184.

2. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 1, en donde:

el promotor está situado a 5' con respecto a la secuencia de polinucleótidos heteróloga; y

el promotor es un promotor específico de tejido;

el promotor impulsa la expresión de la secuencia de polinucleótidos heteróloga en un órgano seleccionado entre el músculo, el sistema nervioso central (SNC), el sistema ocular, el hígado, el corazón, el riñón, el páncreas, los pulmones, la piel, la vejiga, el tracto urinario, o cualquier combinación de los mismos;

el promotor impulsa la expresión de la secuencia de polinucleótidos heteróloga en hepatocitos, células endoteliales, células musculares cardíacas, células musculares esqueléticas, células sinusoidales, neuronas aferentes, neuronas eferentes, interneuronas, células gliales, astrocitos, oligodendrocitos, microglía, células ependimarias, células epiteliales pulmonares, células de Schwann, células satélite, células fotorreceptoras, células ganglionares de la retina, o cualquier combinación de los mismos; y/o

el promotor se selecciona del grupo que consiste en un promotor de la tiretina de ratón (mTTR), un promotor del factor VIII humano endógeno (F8), un promotor de la alfa-1-antitripsina humana (hAAT), un promotor mínimo de la albúmina humana, un promotor de la albúmina de ratón, un promotor de la tristetraprolina (TTP), un promotor CASI, un promotor CAG, un promotor de citomegalovirus (CMV), α 1-antitripsina (AAT), creatina quinasa muscular (MCK), cadena pesada alfa de miosina (α MHC), mioglobina (MB), desmina (DES), SPc5-12, 2R5Sc5-12, dMCK, tMCK, y un promotor de fosfoglicerato quinasa (PGK).

3. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde:
la secuencia de polinucleótidos heteróloga comprende además una secuencia intrónica comprendiendo una secuencia de nucleótidos expuesta en SEQ ID NO: 115 o 192.

4. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 3, en donde:
la secuencia intrónica está ubicada 5' con respecto a la secuencia de polinucleótidos heteróloga;
la secuencia intrónica está ubicada 3' con respecto al promotor.

5. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la secuencia de polinucleótidos heteróloga codifica un factor de crecimiento seleccionado del grupo que consiste en adrenomedulina (AM), angiopoyetina (Ang), factor de movilidad autocrino, una proteína morfogenética ósea (BMP), BMP2, BMP4, BMP5, BMP7, un miembro de la familia del factor neurotrófico ciliar, factor neurotrófico ciliar (CNTF), factor inhibidor de la leucemia (LIF), interleucina-6 (IL-6), factor estimulante de colonias, factor estimulante de colonias de macrófagos (m-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), un factor de crecimiento epidérmico (EGF), una efrina, efrina A1, efrina A2, efrina A3, efrina A4, efrina A5, efrina B1, efrina B2, efrina B3, eritropoyetina (EPO), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), FGF1, FGF2, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGF7, FGF8, FGF9, FGF10, FGF11, FGF12, FGF13, FGF14, FGF15, FGF16, FGF17, FGF18, FGF19, FGF20, FGF21, FGF22, FGF23, somatotropina bovina fetal (FBS), un miembro de la familia del factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF), GDNF, neurturina, persefina, artemina, factor de diferenciación del crecimiento-9 (GDF9), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento derivado de hepatoma (HDGF), insulina, un

factor de crecimiento similar a la insulina, factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1), IGF-2, una interleucina (IL), IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), factor estimulante de la migración (MSF), proteína estimulante de macrófagos (MSP), proteína similar al factor de crecimiento de hepatocitos (HGFLP), miostatina (GDF-8), una neuregulina, neuregulina 1 (NRG1), NRG2, NRG3, NRG4, una neurotrofina, factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), factor de crecimiento nervioso (NGF), una neurotrofina-3 (NT-3), NT-4, factor de crecimiento placentario (PGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), renalasa (RNLS), factor de crecimiento de células T (TCGF), trombopoyetina (TPO), un factor de crecimiento transformante, factor de crecimiento transformante alfa (TGF- α), TGF- β , factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), y cualquier combinación de los mismos.

6. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la secuencia de polinucleótidos heteróloga codifica un gen seleccionado de distrofina ligada a X, MTM1 (miotubularina), tirosina hidroxilasa, AADC, ciclohidrolasa, SMN1, FXN (frataxina), GUCY2D, RS1, CFH, HTRA, ARMS, CFB/CC2, CNGA/CNGB, Prf65, ARSA, PSAP, IDUA (MPS I), IDS (MPS II), PAH, GAA (alfa-glucosidasa ácida), y cualquier combinación de los mismos.

7. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la secuencia de polinucleótidos heteróloga codifica un miARN que regula por disminución la expresión de un gen diana seleccionado entre SOD1, HTT, RHO, y cualquier combinación de los mismos.

8. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la secuencia de polinucleótidos heteróloga tiene codones optimizados para su expresión en un ser humano.

9. La molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la molécula de ácido nucleico comprende de 5' a 3': la primera ITR, el casete genético, y la segunda ITR; en donde el casete genético comprende una secuencia promotora específica de tejido, una secuencia intrónica, la secuencia de polinucleótidos heteróloga, un elemento regulador postranscripcional y una secuencia de cola de poli(A) 3'UTR.

10. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 9, en donde el casete genético comprende de 5' a 3': una secuencia promotora específica de tejido, una secuencia intrónica, la secuencia de polinucleótidos heteróloga, un elemento regulador postranscripcional y una secuencia de cola de poli(A) 3'UTR, en donde:
- (a) la secuencia promotora específica del tejido comprende un promotor TTP;
 - (b) el intrón es un intrón sintético;
 - (c) el elemento regulador postranscripcional comprende WPRE; y
 - (d) la secuencia de cola poli(A) 3'UTR comprende bGHpA.
11. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
12. Una célula huésped que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la célula huésped es Sf9.
13. Una composición farmacéutica que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o el vector de la reivindicación 11, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
14. Una composición farmacéutica que comprende la célula huésped de la reivindicación 12 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
15. Un sistema de suministro de nanopartículas que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
16. Un método de producción de un polipéptido, que comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 12 que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido en condiciones adecuadas y recuperar el polipéptido.
17. El método de la reivindicación 16, en donde la molécula de ácido nucleico codifica un polipéptido de fenilalanina hidroxilasa (PAH).