

REIVINDICACIONES

1. Un polinucleótido de ARN que comprende una secuencia de ARN de direccionamiento que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90 % con la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 36, 38, 32-35, 37, o 39-62.
2. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 1, donde la secuencia de ARN de direccionamiento comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en:
 - a) una secuencia que difiere de SEQ ID NO: 34 por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos, donde la secuencia de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 108;
 - b) una secuencia que difiere de SEQ ID NO: 36 por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos, donde la secuencia de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 109;
 - c) una secuencia que difiere de SEQ ID NO: 37 por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos, donde la secuencia de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 110;
 - d) una secuencia que difiere de SEQ ID NO: 38 por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos, donde la secuencia de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 111;
 - e) una secuencia que difiere de SEQ ID NO: 39 por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos, donde la secuencia de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 112;
 - f) una secuencia que difiere de SEQ ID NO: 41 por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos, donde la secuencia de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 113; y
 - g) una secuencia que difiere de SEQ ID NO: 42 por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos, donde la secuencia de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 114.
3. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 1, donde dicha secuencia de ARN de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 36 o SEQ ID NO: 38.
4. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 3, donde dicha secuencia de ARN de direccionamiento comprende la secuencia de SEQ ID NO: 95 o SEQ ID NO: 97.
5. El polinucleótido de ARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde dicho polinucleótido de ARN además comprende una segunda secuencia de ARN, donde la segunda secuencia de ARN es sustancialmente complementaria a la secuencia de ARN de direccionamiento.
6. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 5, donde dicho polinucleótido de ARN es un pre-miARN, donde dicho pre-miARN comprende un andamio de pre-miARN, una secuencia guía incrustada y una secuencia pasajera incrustada, donde dicha secuencia guía comprende dicha secuencia de direccionamiento y dicha secuencia pasajera comprende dicha segunda secuencia.
7. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 6, donde el polinucleótido de ARN

comprende una secuencia que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90 % con respecto a cualquiera de SEQ ID NO: 122-128 y 207-224.

8. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 1, donde el polinucleótido de ARN comprende la secuencia de SEQ ID NOs: 123 o 125.
9. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 5, donde dicho polinucleótido de ARN es un ARNsh, donde dicho ARNsh comprende un andamio de ARNsh, una secuencia guía incrustada y una secuencia pasajera incrustada, donde dicha secuencia guía comprende dicha secuencia de direccionamiento y dicha secuencia pasajera comprende dicha segunda secuencia.
10. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 5, donde dicho polinucleótido de ARN es un pri-miARN, donde dicho pri-miARN comprende un andamio de pri-miARN, una secuencia guía incrustada y una secuencia pasajera incrustada, donde dicha secuencia guía comprende dicha secuencia de direccionamiento y dicha secuencia pasajera comprende dicha segunda secuencia.
11. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 10, donde el andamio es un andamio miR-1, miR-26, miR16-1, miR-30, miR-33mi-R101, miR-64, miR-122, miR-125, miR-135, miR-155, miR-155 mejorado (eSIBR), o miR-451.
12. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 10, donde el andamio es un andamio S155e, andamio S26, andamio S126, andamio S33 o andamio S155.
13. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 10, donde dicho polinucleótido de ARN comprende una secuencia que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90 % con respecto a cualquiera de SEQ ID NOs: 115-121, 207-224 o la versión de ARN de SEQ ID NOs: 243-260.
14. El polinucleótido de ARN de la reivindicación 1, donde el polinucleótido de ARN comprende la secuencia de SEQ ID NO: 116 o SEQ ID NO: 118.
15. Un ARN inhibidor opcionalmente modificado que comprende (a) una hebra guía capaz de hibridar con la secuencia diana de cualquiera de SEQ ID NOs: 129-135; y (b) una secuencia pasajera sustancialmente complementaria; donde uno o más nucleótidos de la hebra guía y la hebra pasajera son ARN opcionalmente modificado.
16. Un polinucleótido que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el polinucleótido de ARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-14.
17. Un casete de expresión que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el polinucleótido de ARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, operativamente unida a uno o más elementos de control de expresión.

18. El casete de expresión de la reivindicación 17, donde el casete de expresión comprende un promotor corriente ascendente y una señal de poliadenilación corriente descendente, operativamente unidos a la secuencia de ácido nucleico que codifica el polinucleótido de ARN.
19. El casete de expresión de la reivindicación 18, donde el casete de expresión comprende 5' a 3', operativamente unidos a la secuencia de ácido nucleico que codifica el polinucleótido de ARN, un promotor o promotor/mejorador, la secuencia de ácido nucleico que codifica el polinucleótido de ARN, y una señal de poliadenilación.
20. El casete de expresión de las reivindicaciones 18 o 19, donde el promotor proporciona expresión en el SNC.
21. El casete de expresión de las reivindicaciones 18 o 19, donde el promotor es un promotor EF-1 α .
22. El casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 17-21, donde el casete de expresión es ADN.
23. El casete de expresión de la reivindicación 22, donde el casete de expresión comprende una secuencia que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 95 % con cualquiera de SEQ ID NOs: 168-174.
24. El casete de expresión de la reivindicación 23, donde el casete de expresión comprende la secuencia de SEQ ID NOs: 169 o 171.
25. El casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 17-24, que además comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un factor neurotrófico derivado de célula glial (GDFN) que, o bien está unido operativamente a dicho promotor, o está unido operativamente a un segundo promotor.
26. Un ácido nucleico de vector viral recombinante que comprende el casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 17-25, y elementos virales 5' y 3' que proporcionan empaquetado y/o replicación viral.
27. El ácido nucleico de vector viral recombinante de la reivindicación 26, donde el ácido nucleico de vector viral recombinante es un ADN recombinante y comprende una repetición invertida (ITR) de virus adenoasociado (AAV) que flanquea el extremo terminal 5' del ácido nucleico de vector viral recombinante, y una ITR de AAV que flanquea el extremo terminal 3' del ácido nucleico de vector viral recombinante.
28. El ácido nucleico de vector viral recombinante de la reivindicación 27, donde la ITR 5' y la ITR 3' se seleccionan de la ITR 5' y la ITR 3' de AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh.10,

AAVrh.74 o AAV3B.

29. El ácido nucleico de vector viral recombinante de la reivindicación 27, donde el ácido nucleico de vector viral recombinante es autocomplementario.
30. El ácido nucleico de vector viral recombinante de la reivindicación 27, donde la ITR 5' comprende una secuencia con una identidad de secuencia de por lo menos 95 % a SEQ ID NO: 182, y la ITR 3' comprende una secuencia con una identidad de secuencia de por lo menos 95 % a SEQ ID NO: 183.
31. El ácido nucleico de vector viral recombinante de las reivindicaciones 27 o 30, que comprende una secuencia que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90 % con respecto a la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 175-181.
32. El ácido nucleico de vector viral recombinante de la reivindicación 27, que comprende una secuencia que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 95 % con respecto a SEQ ID NOs: 176 o 178.
33. Un vehículo de suministro que comprende un vector viral o no viral y el polinucleótido de ARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, el ARN inhibidor de la reivindicación 15, el polinucleótido de la reivindicación 16, el casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 17-25 o el ácido nucleico de vector viral recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 26-32.
34. El vehículo de suministro de la reivindicación 33, donde el vehículo de suministro es el vector viral.
35. El vehículo de suministro de la reivindicación 34, donde el vector viral es un AAV recombinante, un vector de lentivirus recombinante, o un vector de adenovirus recombinante.
36. El vehículo de suministro de la reivindicación 35, donde el vector viral es un AAV recombinante que comprende el ácido nucleico de vector viral recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 26-32 y una cápside.
37. El vehículo de suministro de la reivindicación 36, donde el vector recombinante de AAV comprende una cápside que comprende una VP1, VP2 o VP3 que tiene una identidad de secuencia de por lo menos 90 % con respecto a una VP1, VP2 o VP3 de cualquiera de AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh.74, AAV3B, AAV-2i8, AAVrh.10, AAVrh.8, AAVHSC, AAV-B1, AAV-AS, o AAV1/rh.10; o VP1 de SEQ ID NO: 164 o SEQ ID NO: 167.
38. El vehículo de suministro de la reivindicación 36, donde la cápside es una cápside de AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAVrh.74, AAV3B, AAV-2i8, AAVrh.10, AAVrh.8, AAVHSC, AAV-B1,

- AAV-AS, o AAV1/rh.10; o la cápside comprende VP1 de SEQ ID NO: 164 o SEQ ID NO: 167.
39. El vehículo de suministro de la reivindicación 36, donde la cápside comprende VP1 de SEQ ID NO: 164, VP2 de SEQ ID NO: 165, y VP3 de SEQ ID NO: 166.
 40. El vehículo de suministro de la reivindicación 39, donde el ácido nucleico de vector viral recombinante comprende las secuencias de ácido nucleico de SEQ ID NOS: 137 y 151.
 41. El vehículo de suministro de la reivindicación 39, donde el ácido nucleico de vector viral recombinante comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 158.
 42. El vehículo de suministro de la reivindicación 39, donde el ácido nucleico de vector viral recombinante comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 169.
 43. El vehículo de suministro de la reivindicación 39, donde el ácido nucleico de vector viral recombinante comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 176.
 44. El vehículo de suministro de la reivindicación 33, donde el vehículo de suministro es una nanopartícula seleccionada del grupo que consiste en una nanopartícula lipídica (LNP), una nanopartícula polimérica, una nanopartícula polimérica lipídica (LPNP), una nanopartícula a base de proteína o péptido, un dendrímero de ADN o nanoportador a base de ADN, un nanotubo de carbono, una micropartícula, una microcápsula, una nanopartícula inorgánica, una nanopartícula de jaula de péptidos, y un exosoma.
 45. El suministro de vehículo de la reivindicación 44, donde el vehículo de suministro es una LNP o LPNP.
 46. Un vector adenoasociado recombinante que comprende un ácido nucleico de rAAV encapsidado en una cápside, donde dicho ácido nucleico de rAAV comprende (a) una ITR 5' de SEQ ID NO: 182; (b) un promotor EF1a de SEQ ID NO: 184; (c) una secuencia codificante de pri-miARN que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 158, (d) una señal de poliadenilación que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 185, y (e) una ITR 3' de SEQ ID NO: 183, donde (c) está operativamente unido a (b) y (d).
 47. El vector recombinante de AAV de la reivindicación 46, que comprende una secuencia por lo menos 95 % idéntica a SEQ ID NO: 169.
 48. El vector recombinante de AAV de la reivindicación 46 o 47, donde dicha cápside comprende VP1 de SEQ ID NO: 164, VP2 de SEQ ID NO: 165, y VP3 de SEQ ID NO: 166.
 49. Una composición farmacéutica que comprende el polinucleótido de ARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, el ARN inhibidor de la reivindicación 15, el

polinucleótido de la reivindicación 16, el casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 17-25, el ácido nucleico de vector viral recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 26-32, el vehículo de suministro de cualquiera de las reivindicaciones 33-45, el vector de rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 46-48, y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

50. Un método para reducir o inhibir la agregación de α -sinucleína en una célula o en un sujeto, que comprende administrar a la célula o al sujeto el polinucleótido de ARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, el ARN inhibidor de la reivindicación 15, el polinucleótido de la reivindicación 16, el casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 17-25, el ácido nucleico de vector viral recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 26-32, el vehículo de suministro de cualquiera de las reivindicaciones 33-45, el vector de rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 46-48 o la composición farmacéutica de la reivindicación 49.
51. Un método de tratamiento de un sujeto para una enfermedad o trastorno de sinucleinopatía, que comprende administrar al sujeto el polinucleótido de ARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, el ARN inhibidor de la reivindicación 15, el polinucleótido de la reivindicación 16, el casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 17-25, el ácido nucleico de vector viral recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 26-32, el vehículo de suministro de cualquiera de las reivindicaciones 33-45, el vector de rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 46-48 o la composición farmacéutica de la reivindicación 49.
52. El método de la reivindicación 51, donde la enfermedad o el trastorno de sinucleinopatía es o bien enfermedad con cuerpos de Lewy o atrofia multisistémica.
53. El método de la reivindicación 51, donde la enfermedad o el trastorno de sinucleinopatía es o bien distrofia neuroaxonal infantil, distrofia neuroaxonal atípica, distonía-parkinsonismo de inicio en la edad adulta, parkinsonismo autosómico recesivo de inicio temprano, neurodegeneración asociada a POLG, Niemann-Pick tipo C1 o enfermedad de Krabbe.
54. El método de la reivindicación 51, donde la enfermedad o el trastorno de sinucleinopatía es enfermedad de Parkinson.
55. Un método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno asociado con baja dopamina, que comprende administrar al sujeto el polinucleótido de ARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, el ARN inhibidor de la reivindicación 15, el

polinucleótido de la reivindicación 16, el casete de expresión de cualquiera de las reivindicaciones 17-25, el ácido nucleico de vector viral recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 26-32, el vehículo de suministro de cualquiera de las reivindicaciones 33-45, el vector de rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 46-48, o la composición farmacéutica de la reivindicación 46.

56. El método de cualquiera de las reivindicaciones 50-55, donde la administración comprende la administración directa intraparenquimatosa, intracisternal o intraventricular.
57. El método de cualquiera de las reivindicaciones 50-56, donde la administración inicial es fuera del SNC.
58. El método de cualquiera de las reivindicaciones 50-57, donde el sujeto es un ser humano.
59. El método de cualquiera de las reivindicaciones 50-58, donde dicho método reduce α -sinucleína a alrededor de 25 % a alrededor de 70 %, en relación con los niveles iniciales en la región cerebral transducida.
60. El método de la reivindicación 59, donde dicha región cerebral transducida es la sustancia negra.
61. Un plásmido de genoma vectorial de AAV que comprende el ácido nucleico viral recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 26-32.
62. El plásmido de genoma de AAV de la reivindicación 61, donde el plásmido carece de genes *rep* y *cap*.
63. Un método para producir un vector de rAAV que comprende el paso de cultivar una línea celular de empaquetamiento de rAAV que comprende una actividad de virus auxiliar rAAV, donde el genoma de dicha célula de producción comprende el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 26-32, un gen *rep* y un gen *cap*, donde se produce dicho vector de rAAV.
64. Un método para producir un vector de rAAV, que comprende el paso de cultivar una célula permisiva de rAAV que comprende el plásmido genómico de rAAV de la reivindicación 62, donde la célula permisiva de rAAV comprende además (a) genes *rep* y *cap* proporcionados o bien como parte del genoma celular y/o por uno o más plásmidos separados, y (b) actividad de virus auxiliar proporcionada por el genoma celular y/o proporcionada por uno o más plásmidos separados.
65. El método de la reivindicación 64, donde la célula permisiva de rAAV es una célula empaquetadora, donde el genoma de dicha célula empaquetadora comprende un gen *cap* y un gen *rep*.
66. El método de la reivindicación 64, donde o bien (a) dicho gen *rep*, dicho gen *cap* y

dicha actividad auxiliar se proporcionan en un único plásmido, o (b) dicho gen *rep* y dicho gen *cap* se proporcionan en un plásmido *rep/cap*, y dicha actividad auxiliar es proporcionada por un plásmido auxiliar.

67. Un método para obtener un vector de rAAV, que comprende los pasos de (a) producir el vector de rAAV usando el método de cualquiera de las reivindicaciones 63-66 y (b) purificar el vector de rAAV.