PROTEÍNAS MODIFICADAS DE UNIÓN A ADN

Referencia Cruzada

[001] Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de Estados Unidos No. 62/593,824, presentada el 1 de diciembre de 2017; solicitud de patente provisional de Estados Unidos No. 62/610,014, presentada el 22 de diciembre de 2017; solicitud de patente provisional de Estados Unidos No. 62/646,198, presentada el 21 de marzo de 2018; solicitud de patente provisional de Estados Unidos No. 62/618,966, presentada el 18 de enero de 2018; solicitud de patente provisional de Estados Unidos No. 62/641,806, presentada el 12 de marzo de 2018; solicitud de patente provisional de Estados Unidos No. 62/664,814, presentada el 30 de abril de 2018; y solicitud de patente provisional de Estados Unidos No. 62/664,817, presentada el 30 de abril de 2018, cada una de las cuales se incorpora en la presente por referencia en su totalidad.

Listado de Secuencias

[002] La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que se ha presentado electrónicamente en formato ASCII y por este medio se incorpora como referencia en su totalidad. Esta copia ASCII, creada el 30 de noviembre de 2018, se nombra 46482-711_601_SL.txt y tiene un tamaño de 864,453 bytes.

Campo y Antecedentes de la Invención

[003] Una amplia variedad de enfermedades humanas están asociadas con la expresión anormal de genes. En algunos casos, una mutación genética en un gen provoca que se desregule, se reduzca en expresión o no se exprese para nada, dando por resultado haploinsuficiencia. En algunos casos, una mutación genética en un gen provoca que se aumente en expresión, dando por resultado la sobreexpresión del gen. Existen muchos retos en el tratamiento de trastornos o enfermedades genéticas. Un planteamiento es la terapia génica, la cual implica la administración terapéutica de un ácido nucleico en la célula de un paciente. Sin embargo, siguen sin resolverse varios desafíos asociados con la terapia génica, tal como indeseada respuesta inmunitaria provocada por la terapia génica, efectos fuera de diana, limitaciones en la capacidad de clonación de vehículos de terapia génica (por ejemplo, virus), sustentación del efecto terapéutico durante un período de tiempo más prolongado, etc. El sistema nervioso central (CNS) plantea muchos retos únicos para el desarrollo de una terapia que afronte el deterioro subyacente en una expresión génica y/o proteica. Si bien existen medicamentos que ayudan a manejar los síntomas de las enfermedades/trastornos del CNS, muchas enfermedades/trastornos del CNS, por ejemplo, el síndrome de Dravet o demencia frontotemporal, carecen de tratamientos

específicos o una cura. De esta manera, existe la necesidad de nuevas composiciones y métodos capaces de modular la expresión de cualquier gen endógeno para ayudar a revertir los efectos de una enfermedad o trastorno, en particular, una terapia con inmunogenicidad reducida, efectos reducidos fuera de diana, especificidad incrementada para un gen diana y/o eficacia terapéutica incrementada.

Breve Descripción de la Invención

[004] En uno aspecto, la solicitud proporciona un casete de expresión, que comprende una secuencia que codifica para un factor de transcripción que no se presenta de manera natural el cual incrementa la expresión del gen SCN1A en una célula. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a un sitio diana que es capaz de incrementar la expresión de SCN1A en al menos 20% en un ensayo de activación transcripcional. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A es capaz de reducir la frecuencia de convulsiones en un modelo en ratón del síndrome de Dravet en al menos 20% en un ensayo de convulsiones hipertérmicas. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a un sitio diana que es capaz de incrementar la expresión de SCN1A en al menos 20% en un ensayo de activación transcripcional y el factor de transcripción es capaz de reducir la frecuencia de

convulsiones en un modelo en ratón del síndrome de Dravet en al menos 20% en un ensayo de convulsiones hipertérmicas.

[005] En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una ubicación genómica en el cromosoma 2. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una ubicación genómica en el cromosoma 2 que se encuentra dentro de 110 kb en la dirección 5’ o en la dirección 3’ del sitio de inicio transcripcional del gen SCN1A. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una ubicación genómica en el cromosoma 2 que está dentro de las posiciones 166179652-165989571 (con referencia a GRCh38.p12). En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una ubicación genómica en el cromosoma 2 que está dentro de las posiciones 166128050-166127958 (con referencia a GRCh38.p12). En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una ubicación genómica en el cromosoma 2 que está dentro de las posiciones 166155414-166140590 (con referencia a GRCh38.p12). En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una ubicación genómica en el cromosoma 2 que está dentro de las posiciones 166179652-1661777272 (con referencia a GRCh38.p12). En ciertas

modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una ubicación genómica en el cromosoma 2 que está dentro de las posiciones 1659990246-165989592 (con referencia a GRCh38.p12). En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una región genómica dentro de 200 pb de una ubicación genómica que tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 35-37, 105-111, 136, 195-211, 224-238, 240-267. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una región genómica que se translapa al menos parcialmente con una ubicación genómica que tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 35-37, 105-111, 136, 195-211, 224-238, 240-267. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una región genómica que tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 35-37, 105-111, 136, 195-211, 224-238, 240-267. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A se une a una región genómica que tiene 18-27 nucleótidos (por ejemplo, al menos 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos).

[006] En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN. En ciertas modalidades, el factor de

transcripción que incrementa la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN y un dominio de activación de transcripción. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende al menos 80% de identidad de secuencia con su contraparte humana más cercana. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende al menos 90% de identidad de secuencia con su contraparte humana más cercana. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN y el dominio de activación de transcripción comprenden al menos 80% de identidad de secuencia con sus contrapartes humanas más cercanas. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN y el dominio de activación de transcripción comprenden al menos 90% de identidad de secuencia con sus contrapartes humanas más cercanas. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende un ARN guía y una proteína Cas inactivada con nucleasa. En ciertas modalidades, la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas9 inactivada por nucleasa. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende un dominio de dedo de zinc. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende de seis a nueve dominios de dedos de zinc. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende seis dedos de zinc. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN que comprende seis dedos se une a una región genómica que tiene 18 nucleótidos. En ciertas modalidades, el dominio de unión a

ADN comprende nueve dedos de zinc. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN que comprende nueve dedos de zinc se une a una región genómica que tiene 27 nucleótidos. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende una secuencia que tiene al menos 95% de identidad de secuencia a cualquiera de SEQ ID NO: 135, 371, 372 o 376. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende una secuencia que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 135, 371, 372 o 376. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN se deriva de EGR1 humana o EGR3 humana. En ciertas modalidades, el dominio de activación de transcripción comprende una secuencia VPR, VP64, CITED2 o CITED4, o un fragmento funcional de la misma. En ciertas modalidades, el dominio de activación de transcripción comprende una secuencia CITED2 o CITED4 humana, o un fragmento funcional de la misma.

[007] En ciertas modalidades, el casete de expresión que codifica para un factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A comprende además un elemento regulador que impulsa la expresión del factor de transcripción a un nivel más alto en neuronas de PV que en otros tipos de células. En ciertas modalidades, el elemento regulador comprende una secuencia que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 183, 184, 185, o 417. En ciertas modalidades, el elemento regulador comprende una secuencia que tiene SEQ ID NO: 183 o 185.

[008] En ciertas modalidades, el casete de expresión que

codifica para un factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A es parte de un vector viral. En ciertas modalidades, el vector viral es un virus AAV. En ciertas modalidades, el virus AAV es un virus AAV9 o un virus scAAV9.

[009] En otro aspecto, la solicitud proporciona un método para incrementar la expresión de SCN1A en una célula al administrar cualquiera de casete de expresión descrito en la presente que codifica para un factor de transcripción que incrementa la expresión de SCN1A. En ciertas modalidades, la célula es una neurona de PV. En ciertas modalidades, la célula está dentro de un sujeto. En ciertas modalidades, el sujeto es un mamífero. En ciertas modalidades, el paciente es un humano. En ciertas modalidades, el incremento de la expresión de SCN1A trata una enfermedad, trastorno o síntoma. En ciertas modalidades, el trastorno es un trastorno del sistema nervioso central. En ciertas modalidades, el trastorno es síndrome de Dravet. En ciertas modalidades, el trastorno del sistema nervioso central es hiperactividad neuronal. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno del sistema nervioso central comprende reducir la hiperactividad neuronal. En ciertas modalidades, un síntoma del trastorno del sistema nervioso central son convulsiones. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno del sistema nervioso central comprende reducir la frecuencia de las convulsiones. En ciertas modalidades, el tratamiento del

trastorno del sistema nervioso central comprende reducir la gravedad de las convulsiones. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno del sistema nervioso central comprende reducir la gravedad y frecuencia de las convulsiones.

[0010] En otro aspecto, la solicitud proporciona un casete de expresión, que comprende una secuencia que codifica para un factor de transcripción que no se presenta de manera natural el cual incrementa la expresión del gen GRN en una célula.

[0011] En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de GRN se une a una región genómica que tiene 18-27 nucleótidos.

[0012] En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN. En ciertas modalidades, el factor de transcripción que incrementa la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN y un dominio de activación de transcripción. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende un ARN guía y una proteína Cas inactivada con nucleasa. En ciertas modalidades, la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas9 inactivada por nucleasa. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende un dominio de dedo de zinc. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende de seis a nueve dominios de dedos de zinc.

En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende seis dedos de zinc. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN que comprende seis dedos de zinc se une a una región genómica que tiene 18 nucleótidos. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende nueve dedos de zinc. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN que comprende nueve dedos de zinc se une a una región genómica que tiene 27 nucleótidos. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende una secuencia que tiene al menos 95% de identidad de secuencia a cualquiera de SEQ ID NO: 171 o 412-416. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN comprende una secuencia que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 171 o 412-416. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN se deriva de EGR1 humana o EGR3 humana. En ciertas modalidades, el dominio de activación de transcripción comprende una secuencia VPR, VP64, CITED2 o CITED4, o un fragmento funcional de la misma.

[0013] En ciertas modalidades, el casete de expresión que codifica para un factor de transcripción que incrementa la expresión de GRN comprende además un elemento regulador que impulsa la expresión del modulador transcripcional que no se presenta de manera natural. En ciertas modalidades, el elemento regulador es un elemento regulador selectivo tipo celular.

[0014] En ciertas modalidades, el casete de expresión que

codifica para un factor de transcripción que incrementa la expresión de GRN es parte de un vector viral. En ciertas modalidades, el vector viral es un virus AAV. En ciertas modalidades, el virus AAV es un virus AAV9 o un virus scAAV9.

[0015] En otro aspecto, la solicitud proporciona un método para incrementar la expresión de GRN en una célula al administrar cualquiera de casete de expresión descrito en la presente que codifica para un factor de transcripción que incrementa la expresión de GRN. En ciertas modalidades, el incremento de la expresión de GRN trata una enfermedad, trastorno o síntoma. En ciertas modalidades, la célula está dentro de un sujeto. En ciertas modalidades, el sujeto es un mamífero. En ciertas modalidades, el paciente es un humano. En ciertas modalidades, la célula se selecciona del grupo que consiste de: células de sistema nervioso central, células de corteza frontal, células gliales, células microgliales y células estriadas. En ciertas modalidades, la modulación de la expresión de GRN trata una enfermedad o trastorno. En ciertas modalidades, el trastorno es un trastorno del sistema nervioso central. En ciertas modalidades, el trastorno es degeneración frontotemporal (FTD), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer o aterosclerosis. En ciertas modalidades, un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es una presencia de cuerpos de Lewy, haploinsuficiencia de progranulina (GRN), déficit social,

anormalidad lisosomal, pérdida de memoria, pérdida de coordinación motora o temblores musculares. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno de sistema nervioso central comprende reducir la frecuencia de temblores musculares y/o reducir la severidad de temblores musculares.

[0016] En otro aspecto, la solicitud proporciona un casete de expresión que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que comprende un dominio de unión a ADN que comprende tres o más dominios de unión a ADN, en donde la proteína de unión a ADN incrementa o reprime la expresión de un gen endógeno por un factor de al menos 5 veces, y en donde la proteína de unión a ADN tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana. En modalidades de ejemplo, el dominio de unión a ADN comprende tres o más dominios de dedos de zinc.

[0017] En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana se une a un sitio diana en el genoma humano al que la proteína de contraparte humana no se une de manera natural. En ciertas modalidades, la contraparte humana es EGR1. En ciertas modalidades, la contraparte humana es EGR3. En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana comprende al menos 6 dominios de dedos de zinc. En ciertas modalidades,

la proteína de unión a proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana comprende 9 dominios de dedos de zinc. En ciertas modalidades, el dominio de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana comprende al menos una sustitución de aminoácido en la posición -1, 2, 3 o 6 de hélices de reconocimiento de uno o más dominios de dedos de zinc. En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana comprende uno o más dominios de dedos de zinc derivados de EGR1 o EGR3.

[0018] En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana comprende además un dominio de efector de transcripción. En ciertas modalidades, el dominio de efector de transcripción se deriva de CITED2 o CITED4. En ciertas modalidades, el dominio de efector de transcripción se coloca en el extremo C-terminal del dominio de unión a ADN en la proteína de unión a ADN. En ciertas modalidades, el dominio de efector se coloca en el extremo N-terminal del dominio de unión a ADN en la proteína de unión a ADN. En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana comprende un dominio de efector colocado en el extremo N-terminal del dominio de unión a ADN en la proteína

de unión a ADN y un dominio de efector colocado en el extremo C-terminal del dominio de unión a ADN en la proteína de unión a ADN.

[0019] En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana reconoce un sitio de unión a diana de 18pb o más largo. En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana reconoce un sitio de unión a diana de 27pb.

[0020] En ciertas modalidades, el casete de expresión que codifica para la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana comprende además un elemento regulador selectivo tipo celular. En ciertas modalidades, el casete de expresión que codifica para la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana comprende además un elemento regulador que activa la expresión de la proteína de unión a ADN a un nivel más alto en neuronas de PV que en otros tipos de células. En ciertas modalidades, el elemento regulador comprende una secuencia que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 183, 184, 185, o 417. En ciertas modalidades, el elemento regulador comprende una secuencia que tiene SEQ ID NO: 183 o 185.

[0021] En ciertas modalidades, el casete de expresión que

codifica para una proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana está en un vector viral. En ciertas modalidades, el vector viral es AAV. En ciertas modalidades, el AAV es AAV9 o scAAV9.

[0022] En otro aspecto, la solicitud proporciona un método para tratar una enfermedad o condición, el método comprende administrar una terapia génica que comprende cualquier casete de expresión proporcionado en la presente que codifica para una proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana. En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana produce respuesta inmunitaria reducida o mínima cuando se expresa en una célula o *in vivo*. En ciertas modalidades, la célula está dentro de un sujeto. En ciertas modalidades, el sujeto es un mamífero. En ciertas modalidades, el paciente es un humano. En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana incrementa la expresión de SCN1A endógeno. En ciertas modalidades, la célula es una neurona de PV. En ciertas modalidades, el incremento de la expresión de SCN1A trata una enfermedad, trastorno o síntoma. En ciertas modalidades, el trastorno es un trastorno del sistema nervioso central. En ciertas modalidades, el

trastorno es síndrome de Dravet. En ciertas modalidades, el trastorno del sistema nervioso central es hiperactividad neuronal. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno del sistema nervioso central comprende reducir la hiperactividad neuronal. En ciertas modalidades, un síntoma del trastorno del sistema nervioso central son convulsiones. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno del sistema nervioso central comprende reducir la frecuencia de las convulsiones. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno del sistema nervioso central comprende reducir la gravedad de las convulsiones. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno del sistema nervioso central comprende reducir la gravedad y frecuencia de las convulsiones. En ciertas modalidades, la proteína de unión a ADN que tiene 90% o más de identidad de secuencia a su contraparte humana más cercana aumenta la expresión de GRN endógena. En ciertas modalidades, la célula se selecciona del grupo que consiste de: células de sistema nervioso central, células de corteza frontal, células gliales, células microgliales y células estriadas. En ciertas modalidades, la modulación de la expresión de GRN trata una enfermedad o trastorno. En ciertas modalidades, el trastorno es un trastorno del sistema nervioso central. En ciertas modalidades, el trastorno es degeneración frontotemporal (FTD), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer o

aterosclerosis. En ciertas modalidades, un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es una presencia de cuerpos de Lewy, haploinsuficiencia de progranulina (GRN), déficit social, anormalidad lisosomal, pérdida de memoria, pérdida de coordinación motora o temblores musculares. En ciertas modalidades, el tratamiento del trastorno de sistema nervioso central comprende reducir la frecuencia de temblores musculares y/o reducir la severidad de temblores musculares.

Incorporación por Referencia

[0023] Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente mencionadas en esta especificación se incorporan en la presente por referencia al mismo grado como si cada publicación, solicitud o solicitud de patente individual se indicara de manera específica e individualmente que se va a incorporar por referencia.

Breve Descripción de las Figuras

[0024] Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones anexas. Se obtendrá un mejor entendimiento de las características y ventajas de la presente invención por referencia a la siguiente descripción detallada que expone casos ilustrativos, en los cuales se utilizan los principios de la invención, y figuras anexas de las cuales:

[0025] La **Figura 1** ilustra el efecto de diferentes elementos reguladores en la expresión de luciferasa en células 293T,

medido en términos de actividad de luciferasa normalizada. Por ejemplo, combinado con un promotor CMV mínimo (minCMV) activó la expresión de luciferasa a un nivel aproximadamente 1.4 veces mayor que la expresión activada por el promotor minCMV solo, y aproximadamente 60 veces mayor que la expresión activada por un promotor SCP. En el mismo experimento, SEQ ID NO: 178 enlazada a un promotor minCMV activó la expresión de luciferasa a un nivel aproximadamente 3.5 veces mayor que el promotor minCMV solo y aproximadamente 140 veces mayor que un promotor SCP.

[0026] La **Figura 2** ilustra la actividad normalizada por tamaño (calculada al dividir la actividad de luciferasa normalizada como se muestra en **Figura 1** por la longitud del elemento regulador en pares de bases) de cada elemento regulador.

[0027] La **Figura 3** ilustra la expresión selectiva de eGFP bajo el control de elementos reguladores GABAérgicos-selectivos (RE), tal como los RE que son selectivos para células de parvalbúmina (PV). Los vectores AAVDJ que contienen eGFP, bajo el control de ya sea un promotor EF1α o un RE GABAérgico/PV-selectivo tal como SEQ ID NO: 183, que incluye SEQ ID NO: 185 o SEQ ID NO: 184, se inyectaron en un ratón que expresó tdTomato (una proteína fluorescente roja (RFP)) en células GABAérgicas/de PV. Las imágenes de fila superior muestran el patrón de eGFP expresada de una

construcción que contiene el promotor EF1α (SEQ ID NO: 186), el RE selectivo a GABAérgica/PV SEQ ID NO: 183 o SEQ ID NO: 184. Las imágenes de fila inferior muestran las neuronas GABAérgicas/de PV, que son positivas a GAD2. Las células que expresan tanto eGFP como tdTomato se pueden identificar ya sea al traslapar la imagen de fila superior con la imagen inferior, o al identificar la fluorescencia desde la misma ubicación tanto en la imagen de fila superior como de fila inferior. Ejemplos de células que expresan tanto eGFP como tdTomato se indican con puntas de flecha.

[0028] La **Figura 4** ilustra la cuantificación de eficiencia de expresión de eGFP por neuronas GABAérgicas/de PV en la **Figura 3** (como se mide, por ejemplo, como el porcentaje de células que expresan tdTomato que también expresan eGFP).

[0029] La **Figura 5** ilustra la cuantificación de especificidad de expresión de eGFP por neuronas GABAérgicas/de PV en la **Figura 3** (como se mide, por ejemplo, como el porcentaje de células que expresan eGFP que también expresan tdTomato (o RFP+)).

[0030] La **Figura 6** ilustra el favorecimiento de expresión de SCN1A endógeno usando factores de transcripción modificados que se unen a diferentes regiones en el cromosoma 2 (con referencia a GRCh38.p12). Los datos se presentan como veces de cambio en la expresión de SCN1A con respecto a la condición de control (EGFP-KASH).

[0031] La **Figura 7** ilustra la expresión relativa de SCN1A presentada como veces de cambio con respecto al control de eGFP en Log_{10}.

[0032] La **Figura 8** ilustra la expresión relativa de transcripciones CN1A, TTC21B, SCN9A, SNCA, GRN, UTRN, y TTN endógenas presentadas como veces de cambio con respecto al control.

[0033] La **Figura 9A** ilustra una modalidad de un eTF descrito en la presente, en donde el dominio de unión a ADN (DBD) de un factor de transcripción de humano que se presenta de manera natural (TF) se ha alterado, reprogramado o modificado para reconocer un sitio de unión a diana en o cerca de una diana génica de interés. La figura superior ilustra un factor de transcripción que se presenta de manera natural sin afinidad de unión a un sitio diana (representado por una barra negra) asociado con un gen endógeno de interés o un diana génica. La figura inferior ilustra un eTF, en donde el DBD, que comprende múltiples dedos de zinc (representados por cilindros) que se han alterado, modificado o reprogramado para unirse a un sitio diana de un gen de interés, por ejemplo, al duplicar o triplicar los dedos de zinc del DBD que se presenta de manera natural y/o al elaborar sustituciones de aminoácidos en los dedos de zinc.

[0034] La **Figura 9B** ilustra otra modalidad de un eTF descrito en la presente, o un eTF híbrido, que comprende un

DBD derivado de un TF humano que se presenta de manera natural fusionado a un dominio de transactivación (TAD) de una proteína co-reguladora de humano o un cofactor de transcripción, por ejemplo, TAD de una proteína transactivadora que interactúa con Cbp/p300 tal como CITED2 o CITED4. La figura superior ilustra un DBD derivado de una proteína humana y modificado para unirse específicamente a un sitio diana deseado en el genoma (barra negra). La figura inferior ilustra el DBD fusionado a un TAD, por ejemplo, TAD de CITED2, para formar un eTF híbrido. Este eTF híbrido activa la expresión de un gen diana al unirse a la secuencia de sitio diana en el genoma y al modular (por ejemplo, al activar) la transcripción del gen diana mediante el TAD en el eTF.

[0035] La **Figura 10** ilustra el porcentaje de conservación (o identidad de secuencia) entre diferentes proteínas de modulación de transcripción y proteína humana que se presenta de manera natural y sus tamaños en pares de bases (pb). En diferentes modalidades, los eTF de esta descripción se pueden codificar por 1,000-1,800 pb de secuencia de ácido nucleico y comprender >90% de identidad de secuencia global (es decir, identidad de secuencia sobre la secuencia de aminoácidos de longitud completa del eTF) a una proteína humana que se presenta de manera natural, que puede reducir la respuesta inmunitaria o inmunogenicidad cuando se administra en una

célula o *in vivo*, por ejemplo, mediante terapia génica. En comparación, los factores de transcripción basados en dCas9, que comprenden un dominio Cas9 desactivado (dCas9), no tienen identidad de secuencia global a proteínas humanas endógenas y son más grandes en tamaño. Las proteínas de dedos de zinc convencionalmente construidas (ZFP), o proteínas de unión al ADN artificiales o sintéticas que comprenden dedos de zinc diseñados in silico, pueden ser más pequeñas en tamaño, pero tienen menor identidad de secuencia (aproximadamente 55%) a las proteínas humanas endógenas.

[0036] La **Figura 11** ilustra diferentes enfoques para modular un gen endógeno. En la figura superior, una proteína moduladora de transcripción comprende un DBD que comprende múltiples dedos de zinc sintéticos (ZF), tal como los ZF diseñados in silico, fusionados a un dominio de transactivación (TAD) de VP64. En la segunda figura, un TF tipo silvestre se presenta de manera natural, pero no se une a un sitio diana de un gen de interés. En la tercera figura, un eTF comprende un TF que se presenta de manera natural cuyo DBD se ha alterado o reprogramado para unirse a un sitio diana de 18nt en o cerca de un gen de interés, por ejemplo, en donde el DBD del TF tipo silvestre se reemplaza con dedos de zinc sintéticos. En la cuarta figura, un eTF se deriva del TF tipo silvestre, en donde el DBD se modifica para reconocer un sitio de unión a diana de 9nt en o cerca del gen de

interés. En la figura inferior, un eTF se deriva del TF tipo silvestre, en donde el DBD del TF tipo silvestre se ha duplicado y reprogramado (por ejemplo, mediante sustituciones de aminoácidos en los ZF) para formar un DBD de 6 dedos de zinc que reconoce un sitio de unión a diana de 18nt en o cerca del gen de interés. Estas diferentes modalidades de los eTF se pueden ensayar usando un ensayo de activación indicadora, en donde el gen diana es un gen indicador (por ejemplo, EGFP). Los eTF en las figuras superior, tercera, cuarta y quinta dan por resultado la expresión del gen indicador.

[0037] La **Figura 12A** ilustra esquemas de ensayo de activación de SCN1A, en donde la expresión de SCN1A en células HEK293 indica la unión a un sitio de unión a diana específico de SCN1A y la activación de la expresión génica de SCN1A por un eTF. La figura superior ilustra un eTF modificado para reconocer el sitio de unión a TRE para el gen indicador de EGFP, que falla en unirse al sitio de unión a diana SCN1A y, por lo tanto, falla en expresar SCN1A. La figura inferior ilustra un eTF derivado de una proteína humana que se presenta de manera natural, que comprende al menos 98% de identidad de secuencia a la proteína humana y un DBD modificado para unirse a un sitio de unión a diana SCN1A de 18 nt, da por resultado la activación génica de SCN1A y por lo tanto, la expresión de SCN1A.

[0038] La **Figura 12B** ilustra la cuantificación de los resultados del ensayo de activación de SCN1A los eTF de ejemplo ilustrados en la **Figura 12A**). Un eTF que comprende seis dedos de zinc (SEQ ID NO: 6) con alta identidad de secuencia global o general a EGR1 y en donde su DBD se modificó para reconocer un sitio de unión específico cerca o en el gen SCN1A endógeno dio como resultado la expresión 2.5 veces de SCN1A en células HEK293 transfectadas en comparación con SEQ ID NO: 4, cuyo DBD se modificó para reconocer el sitio de unión a TRE, no un sitio de unión a diana SCN1A.

[0039] La **Figura 13A** ilustra esquemas de activación de SCN1A por dos eTF de ejemplo, cada uno derivado de una proteína humana que se presenta de manera natural. La figura superior ilustra un eTF en donde el DBD de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3) se duplica para formar un DBD que tiene 6 dedos de zinc y se modifica o reprograma para unirse a un sitio de unión a diana cerca o en el gen SCN1A endógeno. La figura inferior ilustra un eTF en donde el DBD de una proteína humana que se presenta de manera natural se triplica para formar un DBD que tiene 9 dedos de zinc y se modifica o reprograma para unirse a un sitio de unión a diana cerca o en el gen SCN1A endógeno.

[0040] La **Figura 13B** ilustra la cuantificación de la expresión relativa de SCN1A activada por cada uno de los eTF ilustrados en la **Figura 13A**). En células HEK293

transfectadas, un eTF (SEQ ID NO: 7) que comprende una alta identidad de secuencia a EGR1 y un DBD de dedo de 6 zinc derivado de EGR1 y modificado para reconocer un sitio de unión a diana de SCN1A dio por resultado la expresión de SCN1A de aproximadamente 7 veces con respecto a un control de vector vacío. Un eTF (SEQ ID NO: 9) que comprende alta identidad de secuencia a EGR1 y un DBD de dedo de 9 zinc derivado de EGR1 y modificado para reconocer un sitio de unión a diana de SCN1A dio por resultado la expresión de SCN1A de aproximadamente 20 veces con respecto al control.

[0041] La **Figura 14** ilustra diferentes modalidades de eTF híbridos que comprenden un DBD humano que tiene alta identidad de secuencia a una proteína humana que se presenta de manera natural fusionada a un TAD de otra proteína, tal como un dominio de activación viral o un TAD de otra proteína humana, tal como CITED2. En diferentes modalidades, la identidad de secuencia local entre el DBD del eTF y el DBD de una proteína humana que se presenta de manera natural es al menos 85%. Este DBD se puede fusionar a diferentes dominios de activación, por ejemplo, un dominio de activación viral tal como VP64, que tiene 0% de identidad de secuencia a una proteína humana; o un dominio de activación de CITED2. El reemplazo del dominio de VP64 con la secuencia CITED humana incrementa la identidad de secuencia total del eTF híbrido en la tercera fila en comparación con una proteína humana que se

presenta de manera natural.

[0042] La **Figura 15** ilustra la expresión relativa de SCN1A endógeno en células HERK293 usando activadores transcripcionales específicos de SCN1A (ver **TABLAS 33-34** en Ejemplo 6). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a condiciones de control y se muestran en una escala Log_{10}.

[0043] La **Figura 16A** ilustra la expresión relativa de SCN1A endógeno en neuronas GABA usando un activador transcripcional específico de SCN1A (SEQ ID NO: 366). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a condiciones de control (CBA-EGFP).

[0044] La **Figura 16B** ilustra la expresión relativa de SCN1A endógeno en neuronas GABA usando activadores transcripcionales específicos de SCN1A (SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 15). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a condiciones de control (CBA-EGFP) en Log_{10}.

[0045] La **Figura 17** ilustra la expresión relativa de SCN1A endógeno y los 40 genes vecinos más cercanos activados por un factor de transcripción específico de SCN1A SEQ ID NO: 366). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a condiciones de control (CBA-EGFP-KASH) en Log_{10}.

[0046] Las **Figura 18A** y **Figura 18B** ilustran la expresión de un activador transcripcional específico de SCN1A *in vivo* en comparación con un casete de expresión de control que expresó

eGFP. La **Figura 18A** ilustra la expresión relativa del gen SCN1A en ratones inyectados con ya sea el casete de expresión de eGFP de control o el casete de expresión A que comprende un activador transcripcional que se une al sitio diana que da por resultado el favorecimiento de la expresión del gen SCN1A endógeno. La **Figura 18B** ilustra el cambio en la expresión de SCN1A en términos de porcentaje medio de eGFP. Estos experimentos indicaron que el activador transcripcional del casete de expresión A dio por resultado aproximadamente 20-30% de favorecimiento de la expresión de SCN1A.

[0047] Las **Figura 19A**, **Figura 19B** y **Figura 19C** ilustran el favorecimiento de la expresión de SCN1A endógeno en el hipocampo de ratones tipo ilvestre usando varios factores de transcripción específicos de SCN1A. **La Figura 19A:** Casete de expresión A; **Figura 19B:** Casete de expresión B; **y Figura 19C:** SEQ ID NO: 365 o 366. Los factores de transcripción SCN1A se compararon con un vector de control (EGFP-KASH) y CBA-EGFP-KASH. Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición EGFP-KASH.

[0048] Las **Figura 20A, Figura 20B, Figura 20C, Figura 20D** y **Figura 20E** ilustran el efecto en convulsiones hipertérmicas en un modelo en ratón del síndrome de Dravet usando diferentes factores de transcripción específicos de SCN1A en comparación con un control. Se les aplicó una infusión a ratones P1 Scn1a +/- con AAV9-EGFP o un vector AAV9 que

expresa un factor de transcripción específico de SCN1A (SEQ ID NO: 305-309). A P26-P28, los ratones infundidos se corrieron a través del ensayo de convulsiones inducidas por hipertermia y se registró la temperatura interna a la cual experimentaron una convulsión tónico-clónica.

[0049] La **Figura 21A, Figura 21B, Figura 21C, Figura 21D** y **Figura 21E** ilustran la supervivencia en un modelo en ratón del síndrome de Dravet bajo diferentes condiciones. La **Figura 21A** ilustra la comparación entre ratones tipo silvestre y Scn1a +/- en un ensayo de supervivencia. Se les aplicó una infusión con PBS a ratones P1 Scn1a +/- (N=53) y Scn1a +/+ (N=54). Se observaron los ratones en su jaula hogar diariamente y en el caso de cualquier mortalidad, se registró la fecha. Hubo una diferencia significativa en la supervivencia entre animales Scn1a +/- y Scn1a +/+ ($P<0.0001$). Las **Figuras 21B-E** ilustran el efecto en la supervivencia en un modelo en ratón del síndrome de Dravet para ratones tratados con varios factores de transcripción específicos de SCN1A en comparación con un control. A ratones P1 Scn1a +/- se les aplicó una infusión con PBS o un vector AAV9 que expresa un factor de transcripción específico de SCN1A (SEQ ID NO: 305-307, o 309). Se observaron los ratones en su jaula hogar diariamente y en el caso de cualquier mortalidad, se registró la fecha.

[0050] La **Figura 22** ilustra la expresión relativa de ARNm de

Scn1A en diferentes tejidos cerebrales después de la administración intraparenquimatosa de un vector AAV9 que codifica para un factor de transcripción específico de SCN1A (SEQ ID NO: 305), administrado a dos macacos cynomolgus a $1.2x10^{12}$ gc/animal, normalizado a dos animales de control no tratados. Todos los animales se sacrificaron 28 días después de la inyección y se cuantificó el ARNm de Scn1A en las muestras de tejido por PCR Taqman. Los datos se reportan como expresión normalizada de ARNm diana en diferentes secciones de tejido del cerebro. También se registraron resultados similares con un diferente conjunto de cebadores/sonda derivados del gen Scn1a.

[0051] La **Figura 23** ilustra el favorecimiento de GRN endógena usando factores de transcripción modificados que se unen a diferentes regiones genómicas.

[0052] Las **Figura 24A** y **Figura 24B** ilustran los experimentos *in vitro* con diferentes casetes de expresión, cada uno que comprende un activador transcripcional de GRN. **La Figura 24A** ilustra la expresión relativa de progranulina presentada como veces de cambio con respecto al control. **La Figura 24B** ilustra los experimentos ELISA con varios activadores transcripcionales de progranulina, expresados en términos de hPGRN en sobrenadante (ng/mL).

[0053] La **Figura 25** ilustra la actividad normalizada de luciferasa de diversos elementos reguladores (RE) en la

expresión de luciferasa en células 293T. Por ejemplo, el elemento regulador SEQ ID NO: 178 enlazado de manera operativa a un promotor minCMV activó la expresión de luciferasa a un nivel aproximadamente 3.5 veces mayor que el promotor minCMV solo y aproximadamente 140 veces mayor que un promotor SCP.

[0054] La **Figura 26** ilustra el nivel de transcripción de PGRN medido por qPCR en células HEK293 que se transfectaron con plásmidos que expresan ya sea EGFP o un activador específico de GRN (SEQ ID NO: 10, 16, 59, 60, 63, 64, 72, 73, 77, L, o 342). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control.

[0055] La **Figura 27** ilustra el nivel de proteína PGRN medido por ELISA secretada de células HEK293 que se transfectaron con plásmidos que expresan ya sea EGFP o un activador específico de GRN (SEQ ID NO: 10 o 16). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control.

[0056] La **Figura 28** ilustra el nivel de transcripción de PGRN medido por qPCR en neuronas GABA que se transfectaron con un vector AAV (serotipo AAV-DJ) que expresa ya sea EGFP o un activador específico de GRN (SEQ ID NO: 342) bajo el control de un promotor CBA. Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control.

[0057] La **Figura 29** ilustra el nivel de proteína PGRN medido

por ELISA secretada de neuronas GABA que se infectaron con dosis bajas (0.5E11 copias de genoma/concavidad) y altas (2E11 copias de genoma/concavidad) con un vector AAV (serotipo AAV-DJ) que expresa ya sea EGFP o un activador específico de GRN (SEQ ID NO: 342) bajo el control de un promotor CBA. Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control.

[0058] La **Figura 30** ilustra los niveles de proteína PGRN en plasma, medidos en µg/mL, para ratones tratados con AAV9 que comprenden el casete de expresión J o G, cada uno que comprende un activador transcripcional de GRN, a diferentes dosis en comparación con un control de PBS.

[0059] La **Figura 31A** ilustra la cuantificación de los resultados del ensayo de activación de indicador (EGFP) con varios eTF, expresados como expresión relativa de EGFP en comparación con un control de vector vacío. El factor de transcripción artificial (SEQ ID NO: 51) que comprende un dominio de activación viral fuerte dio como resultado 70 veces la expresión relativa de EGFP. Un factor de transcripción humano EGR1 no modificado (SEQ ID NO: 1) no activó el gen indicador con respecto al control (vector vacío). Un eTF derivado de EGR1 (SEQ ID NO: 2) que comprende seis dedos de zinc modificados dio como resultado 10 veces la expresión de EGFP. Un eTF derivado de EGR1 (SEQ ID NO: 3) que comprende tres dedos de zinc con al menos uno o más cambios

de aminoácido en sus dedos de zinc dio como resultado 3 veces la expresión relativa de EGFP. Duplicación de los dedos de zinc en los dedos de EGR1 (SEQ ID NO: 4) dio como resultado 15 veces la expresión relativa de EGFP.

[0060] La **Figura 31B** ilustra las fotomicrografías fluorescentes del ensayo de activación de indicador (EGFP) cuantificado en la **Figura 31A**). Las células que expresan EGFP aparecen como color gris claro.

[0061] La **Figura 32** ilustra diversas modalidades de eTF derivados de EGR3 y modificados para reconocer un sitio de unión a diana que da como resultado la expresión del gen indicador EGFP. Un eTF (SEQ ID NO: 12) que comprende seis dedos de zinc derivados de la proteína EGR3 y modificados para reconocer el sitio de unión a TRE en el ensayo de indicador dio como resultado la expresión de EGFP de manera similar a un eTF derivado de EGR1 (SEQ ID NO: 51), que comprende un TAD derivado de VP64. Ambos eTF dieron como resultado alta expresión de EGFP en comparación con un control que comprende un DBD humano modificado sin un dominio de activación (codificado por SEQ ID NO: 187).

[0062] La **Figura 33A** ilustra esquemas de diferentes eTF modificados para reconocer la secuencia de unión a TRE en un ensayo de activación de indicador de EGFP. La primera figura ilustra un DBD humano alterado, modificado para reconocer el sitio de unión a TRE, pero carece de un dominio de activación

(SEQ ID NO: 50), lo que no da por resultado ninguna activación de la expresión de EGFP. En la segunda figura, un DBD humano modificado se fusiona a un dominio de activación viral fuerte VP64 (SEQ ID NO: 95) da como resultado la activación de la expresión de EGFP. En la tercera y cuarta figuras, un DBD humano modificado se fusiona a un dominio de activación humano, ya sea CITED2 (SEQ ID NO: 96) o CITED4 (SEQ ID NO: 97), ambos de los cuales activan la expresión de EGFP.

[0063] La **Figura 33B** ilustra la cuantificación de la expresión relativa de EGFP para cada eTF descrito en la **Figura 33A**). SEQ ID NO: 50 dió por resultado un nivel similar de expresión de EGFP como el control indicadorsolo. Los eTF que tienen secuencias de SEQ ID NO: 51-53 cada uno dio como resultado la expresión relativa de EGFP de aproximadamente 40, 15 y 10 veces en comparación con el control indicador solo, respectivamente.

[0064] La **Figura 33C** ilustra las fotomicrografías fluorescentes para cada eTF en el ensayo de activación de indicador de EGFP ilustrado en la **Figura 33A** y cuantificado en la **Figura 33B**.

[0065] La **Figura 34** ilustra un resumen de diversas modalidades de los eTF con un amplio intervalo de actividad transcripcional (o expresión relativa de indicador) y diversos grados de identidad (o conservación) de secuencia

con proteínas humanas que se presentan de manera natural.

[0066] La **Figura 35A** ilustra una vista esquemática del ensayo Elispot para probar la inmunogenicidad de un eTF descrito en la presente. El ensayo Elispot se utiliza para probar si las células T de donadores sanos normales pueden reconocer y responder a péptidos que se prevé que sean inmunogénicos. Las células T se mezclan con células presentadoras de antígeno (por ejemplo, células dendríticas o DC) con mezclas de péptidos que se analizarán en concavidades elispot. Si las células T reconocen los péptidos como extraños, las células T se llevan a activar, proliferar y secretan citocinas (tal como interferón gamma). Después del procesamiento con reactivos de desarrollo, se pueden contar los puntos positivos a interferón gamma (IFNγ). Un mayor número de manchas en comparación con un control (por ejemplo, un péptido conocido o amortiguador no inmunogénico solo) se correlaciona con una mayor inmunogenicidad.

[0067] La **Figura 35B** ilustra un ejemplo de acercamiento de un resultado elispot que muestra inmunogenicidad incrementada (círculo derecho) en comparación con un control (círculo izquierdo). Los puntos positivos a IFN-gamma se muestran como puntos negros.

[0068] La **Figura 36** ilustra un vector que comprende un casete de expresión que comprende un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural, que

comprende un dominio de unión a ADN de un factor de transcripción unido de manera operativa a un dominio de activación de VP64, para incrementar la expresión del gen SCN1A.

[0069] La **Figura 37** ilustra un vector AAV que comprende un casete de expresión que comprende un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural, tal como un dominio dSaCa9 inactivado con nucleasa, unido de manera operativa a un dominio de activación transcripcional de VP64. Este casete de expresión también comprende un ARN guía que se expresa con el transgén dSaCas9. Otros elementos ilustrados incluyen una señal de localización nuclear (NLS), promotor, los ITR de AAV, señal de poliA y un marcador de selección.

Descripción Detallada de la Invención

[0070] En la presente se proporcionan factores de transcripción modificados, o los eTF, que no se presentan de manera natural y se han diseñado para unirse a un sitio diana genómico y modular la expresión de un gen endógeno de interés. Estos eTF se pueden diseñar para favorecer o reducir la expresión (expresión de ARN y/o proteína) de un gen de interés.

[0071] En un aspecto, la solicitud proporciona eTF que son capaces de favorecer la expresión del gen de canal de sodio regulado por voltaje subunidad alfa 1 (SCN1A) y aumentar la

expresión de su producto proteico correspondiente Nav1.1 y métodos de uso de los mismos para tratar enfermedades o trastornos asociados con una deficiencia en Nav1.1, tal como, por ejemplo, síndrome de Dravet.

[0072] En otro aspecto, la solicitud proporciona los eTF que son capaces de favorecer la expresión del gen de progranulina (GRN) e incrementar la expresión de la proteína GRN y métodos de uso de la misma para tratar enfermedades o trastornos asociados con una deficiencia en GRN, tal como, por ejemplo, demencia frontotemporal (FTD).

[0073] En otro aspecto, la solicitud proporciona los eTF que tienen un alto por ciento de identidad de secuencia a proteínas humanas que se pueden diseñar para unirse a un sitio diana genómico y modular la expresión (favorecimiento o reducción) de cualquier gen de interés, incluyendo, por ejemplo, SCN1A o GRN. Estos eTF tienen poca o ninguna inmunogenicidad cuando se administran a un sujeto o tienen inmunogenicidad reducida en comparación con los eTF que tienen menor por ciento de identidad a secuencias de proteínas humanas.

Definiciones

[0074] Como se usa en la presente, las formas singulares “un”, “una”, “el” y “la” se propone que incluyan también las formas plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Además, al grado en que los términos “que

incluye”, “incluye”, "que tiene”, “tiene”, “con” o variantes de los mismos se usan en la descripción detallada y/o las reivindicaciones, se propone que estos términos sean inclusivos de una manera similar al término “que comprende”.

[0075] El término “cerca de” o “aproximadamente” significa dentro de un intervalo de error aceptable para el valor particular como se determina por un experto en la técnica, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor, es decir, las limitaciones del sistema de medición. Por ejemplo, “aproximadamente” puede significar dentro de una o más desviaciones estándar, por la práctica en la técnica. De manera alternativa, “aproximadamente” puede significar un intervalo de hasta 20%, hasta 15%, hasta 10%, hasta 5% o hasta 1% de un valor dado.

[0076] Los términos “que determina”, “que mide”, “que evaluar”, “que valora”, “que ensaya”, “que analiza” y sus equivalentes gramaticales se pueden usar indistintamente en la presente para referirse a cualquier forma de medición e incluyen la determinación de si un elemento está presente o no (por ejemplo, detección). Estos términos pueden incluir tanto determinaciones cuantitativas como/o cualitativas. La valoración puede ser relativa o absoluta.

[0077] El término “expresión” se refiere al proceso por el cual una secuencia de ácido nucleico o un polinucleótido se transcribe de una plantilla de ADN (tal como en ARNm u otra

transcripción de ARN) y/o el proceso por el cual un ARNm transcrito se traduce posteriormente en péptidos, polipéptidos o proteínas. Las transcripciones y polipéptidos codificados se pueden referir de manera colectiva como “producto génico”. Si el polinucleótido se deriva de ADN genómico, la expresión puede incluir el empalme del ARNm en una célula eucariota.

[0078] Como se usa en la presente, “de manera operativa enlazado”, “enlace operativo", "de manera operativa unido” o equivalentes gramaticales de los mismos se refieren a la yuxtaposición de elementos genéticos, por ejemplo, un promotor, un intensificador, una secuencia de poliadenilación, etc., en donde los elementos están en una relación que les permite operar de la manera esperada. Por ejemplo, un elemento regulador, que puede comprender secuencias promotoras y/o intensificadoras, se enlaza de manera operativa a una región codificadora si el elemento regulador ayuda a iniciar la transcripción de la secuencia codificadora. Pueden haber residuos intermedios entre el elemento regulador y la región codificadora siempre y cuando se mantenga esta relación funcional.

[0079] Un “vector” como se usa en la presente se refiere a una macromolécula o asociación de macromoléculas que comprende o se asocia con un polinucleótido y que se puede usar para mediar la administración del polinucleótido a una

célula. Los ejemplos de vectores incluyen plásmidos, vectores virales, liposomas y otros vehículos de administración de genes. El vector en general comprende elementos genéticos, por ejemplo, elementos reguladores, unidos de manera operativa a un gen para facilitar la expresión del gen en una diana.

[0080] Como se usa en la presente, “un casete de expresión” y “un casete de ácido nucleico” se usan indistintamente para referirse a una combinación de secuencias o elementos de ácido nucleico que se expresan conjuntamente o se unen de manera operativa para la expresión. En algunos casos, un casete de expresión se refiere a la combinación de elementos reguladores y un gen o genes a los que están unidos o enlazados de manera operativa para la expresión.

[0081] El término “AAV” es una abreviatura de virus adenoasociado, y se puede usar para referirse al virus mismo o un derivado del mismo. El término abarca todos los serotipos, subtipos y formas tanto naturales como recombinantes, excepto cuando se requiera lo contrario. La abreviación “rAAV” se refiere a virus adenoasociado recombinante, también se refiere a vector AAV recombinante (o “vector rAAV”). El término “AAV” incluye AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, rh10 e híbridos de los mismos, AAV aviar, AAV bovino, AAV canino, AAV equino, AAV primate, AAV no primate y AAV ovino. Las

secuencias genómicas de varios serotipos de AAV, así como las secuencias de las repeticiones terminales nativas (TR), proteínas Rep y subunidades cápside se conocen en la técnica. Estas secuencias se pueden encontrar en la literatura o en bases de datos públicas tal como GenBank. Un “vector rAAV” como se usa en la presente se refiere a un vector AAV que comprende una secuencia de polinucleótido no de origen AAV (es decir, un polinucleótido heterólogo a AAV), habitualmente una secuencia de interés para la transformación genética de una célula. En general, el polinucleótido heterólogo está flanqueado por al menos una, y en general por dos, secuencias de repetición terminal invertida (ITR) de AAV. Un vector rAAV puede ser ya sea monocatenario (ssAAV) o autocomplementario (scAAV). Un “virus AAV” o “partícula viral AAV” se refiere a una partícula viral compuesta de al menos una proteína cápside de AAV y un vector rAAV de polinucleótido en cápside. Si la partícula comprende un polinucleótido heterólogo (es decir, un polinucleótido distinto de un genoma de AAV tipo silvestre tal como un transgén que se va a administrar a una célula de mamífero), se denomina habitualmente “partícula de vector rAAV” o simplemente “partícula rAAV”. De esta manera, la producción de la partícula rAAV necesariamente incluye la producción del vector rAAV, puesto que este vector está contenido dentro de una partícula rAAV.

[0082] Como se usa en la presente, los términos “tratar”,

“tratamiento”, “terapia” y similares se refieren a aliviar, retrasar o desacelerar la progresión, profilaxis, atenuación, reducir los efectos o síntomas, impedir el inicio, inhibir o mejorar el inicio de las enfermedades o trastornos. Los métodos de la presente descripción se pueden usar con cualquier mamífero. Mamíferos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a ratas, gatos, perros, caballos, vacas, ovejas, cerdos y más preferentemente humanos. Un beneficio terapéutico incluye la erradicación o mejora del trastorno subyacente que se trata. Además, se logra un beneficio terapéutico con la erradicación o mejora de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados con el trastorno subyacente de modo que se observa una mejora en el sujeto, a pesar de que el sujeto puede estar todavía afectado con el trastorno subyacente. En algunos casos, para beneficio profiláctico, se puede administrar un producto terapéutico a un sujeto en riesgo de desarrollar una enfermedad particular, o a un sujeto que reporta uno o más de los síntomas fisiológicos de una enfermedad, incluso aunque no se haya realizado un diagnóstico de esta enfermedad. Los métodos de la presente descripción se pueden usar con cualquier mamífero. En algunos casos, el tratamiento puede dar por resultado una disminución o cese de síntomas (por ejemplo, una reducción en la frecuencia, duración y/o severidad de convulsiones). Un efecto profiláctico incluye retrasar o eliminar la aparición

de una enfermedad o condición, retrasar o eliminar el inicio de síntomas de una enfermedad o condición, desacelerar, detener o invertir la progresión de una enfermedad o condición, o cualquier combinación de lo mismo.

[0083] El término “cantidad efectiva” o “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a esa cantidad de una composición descrita en la presente que es suficiente para afectar la aplicación propuesta, incluyendo pero no limitado a tratamiento de enfermedad, como se define a continuación. La cantidad terapéuticamente efectiva puede variar dependiendo de la aplicación de tratamiento propuesta (*in vivo*), o el sujeto y la condición de enfermedad que se trata, por ejemplo, el peso y edad del sujeto, la severidad de la condición de enfermedad, la forma de administración y similares, que se pueden determinar fácilmente por un experto en la técnica. El término también se aplica a una dosis que inducirá una respuesta particular en una célula diana. La dosis específica variará dependiendo de la composición particular elegida, el régimen de dosificación que se va a seguir, si se administra en combinación con otros compuestos, programación de administración, el tejido al cual se administra y el sistema de administración física en el cual se porta.

[0084] Un “fragmento” de una secuencia de nucleótidos o péptidos se refiere a una secuencia que es más corta que una

secuencia de referencia o “longitud completa”.

[0085] Una “variante” de una molécula se refiere a variaciones alélicas de estas secuencias, es decir, una secuencia sustancialmente similar en estructura y actividad biológica a ya sea la molécula completa o a un fragmento de la misma.

[0086] Un “fragmento funcional” de una secuencia de proteína o ADN se refiere a un fragmento que retiene una actividad biológica (ya sea funcional o estructural) que es sustancialmente similar a una actividad biológica de la secuencia de proteína o ADN de longitud completa. Una actividad biológica de una secuencia de ADN puede ser su capacidad para tener influencia en la expresión de una manera conocida que se va a atribuir a la secuencia de longitud completa.

[0087] Los términos “sujeto” e “individuo” se usan indistintamente en la presente para referirse a un vertebrado, preferentemente un mamífero, más preferentemente un humano. Los métodos descritos en la presente pueden ser útiles en productos terapéuticos humanos, aplicaciones veterinarias y/o estudios preclínicos en modelos animales de una enfermedad o condición.

[0088] El término “*in vivo*” se refiere a un evento que tiene lugar en el cuerpo de un sujeto.

[0089] El término “*in vitro*” se refiere a un evento que

tiene lugar fuera del cuerpo de un sujeto. Por ejemplo, un ensayo *in vitro* abarca cualquier ensayo ejectuado fuera de un sujeto. Los ensayos *in vitro* abarcan ensayos basados en células en los cuales se emplean células vivas o muertas. Los ensayos *in vitro* también abarcan un ensayo sin células en el cual no se emplean células intactas.

[0090] En general, “identidad de secuencia” u “homología de secuencia”, que se puede usar indistintamente, se refiere a una correspondencia exacta de nucleótido a nucleótido o aminoácido a aminoácido de dos secuencias de polinucleótidos o polipéptidos, respectivamente. Habitualmente, las técnicas para determinar la identidad de secuencia incluyen comparar dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos y determinar su por ciento de identidad. Las comparaciones de secuencia, tal como para el propósito de valorar identidades, se pueden realizar por cualquier algoritmo adecuado de alineación, incluyendo pero no limitado, el algoritmo Needleman-Wunsch (ver, por ejemplo, el alineador EMBOSS Needle disponible en www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/, opcionalmente con ajustes predeterminados), el algoritmo BLAST (ver, por ejemplo, la herramienta de alineación BLAST disponible en blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi, opcionalmente con ajustes predeterminados) y el algoritmo Smith-Waterman (ver, por ejemplo, el alineador EMBOSS Water disponible en www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_water/, opcionalmente con

ajustes predeterminados). La alineación óptima se puede valorar usando cualquier parámetro adecuado de un algoritmo elegido, incluyendo los parámetros predeterminados. El “por ciento de identidad”, también se referido como “por ciento de homología”, entre dos secuencias se puede calcular como el número de coincidencias exactas entre dos secuencias alineadas de manera óptima divididas por la longitud de la secuencia de referencia y multiplicadas por 100. El por ciento de identidad también se puede determinar, por ejemplo, al comparar información de secuencia usando el programa de computadora avanzado BLAST, que incluye la versión 2.2.9, disponible de National Institutes of Health. El programa BLAST se basa en el método de alineación de Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268 (1990) y como se analiza en Altschul, et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877 (1993); y Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997). Brevemente, el programa BLAST define la identidad como el número de símbolos alineados idénticos (es decir, nucleótidos o aminoácidos), dividido por el número total de símbolos en la más corta de las dos secuencias. El programa se puede usar para determinar el por ciento de identidad sobre la longitud completa de las secuencias que se comparan. Se proporcionan parámetros predeterminados para optimizar búsquedas con secuencias cortas de consulta, por

ejemplo, con el programa Blastp. El programa también permite el uso de un filtro SEG para enmascarar segmentos de las secuencias de consulta como se determina por el programa SEG de Wootton y Federhen, Computers and Chemistry 17: 149-163 (1993). La alta identidad de secuencia en general incluye intervalos de identidad de secuencia de aproximadamente 80% a 100% y valores enteros entre los mismos.

[0091] Como se usa en la presente, “modificado” con referencia a una proteína se refiere a una proteína que no se presenta de manera natural, que incluye, pero no se limita a, una proteína que se deriva de una proteína que se presenta de manera natural, o donde una proteína que se presenta de manera natural se ha modificado o reprogramado para tener una cierta propiedad.

[0092] Como se usa en la presente, “sintético” y “artificial” se usan indistintamente para referirse a una proteína o un dominio de la misma que tiene baja identidad de secuencia (por ejemplo, menos del 50% de identidad de secuencia) a una proteína humana que se presenta de manera natural. Por ejemplo, los dominios VPR y VP64 son dominios de transactivación sintéticos.

[0093] Como se usa en la presente, un “factor de transcripción modificado” o “eTF” se refiere como una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural o un modulador de transcripción que no se presenta de manera

natural que se ha modificado o reprogramado para unirse a un sitio de unión a diana específico y/o para incluir un dominio efector de transcripción modificado o reemplazado.

[0094] Como se usa en la presente, un “dominio de unión a ADN” se puede utilizar para hacer referencia a uno o más motivos de unión a ADN, tal como un dedo de zinc o un motivo de hélice-asa-hélice básico (bHLH), individual o colectivamente como parte de una proteína de unión a ADN.

[0095] Los términos “dominio de activación de transcripción”, “dominio de activación transcripcional”, “dominio de transactivación”, “dominio de transactivación” y “TAD” se utilizan indistintamente en la presente y se refieren a un dominio de una proteína que, junto con un dominio de unión a ADN, puede activar la transcripción de un promotor al poner en contacto la maquinaria transcripcional (por ejemplo, factores de transcripción generales y/o ARN-polimerasa) ya sea directamente o a través de otras proteínas conocidas como co-activadores.

[0096] Los términos “dominio represor transcripcional”, “dominio represor de transcripción” y “TRD” se usan indistintamente en la presente y se refieren a un dominio de una proteína que junto con un dominio de unión a ADN puede reprimir la transcripción de un promotor al poner en contacto la maquinaria transcripcional (por ejemplo, factores de transcripción generales y/o ARN polimerasa) ya sea

directamente o a través de otras proteínas conocidas como co-represores.

[0097] El término “GRCh38.p12” se refiere a la versión de parche 12 de Genome Reference Consortium Human Build 38 (GRCh38.p12) que tiene el No. de acceso a GenBank Assembly GCA_000001405.27 y fecha de 21/12/2017.

[0098] A menos que se indique lo contrario, todos los términos usados en la presente tienen el mismo significado como lo tendrían para un experto en la técnica y la práctica de la presente invención empleará técnicas convencionales de biología molecular, microbiología y tecnología de ADN recombinante, que están dentro del conocimiento de los expertos en la técnica.

Factores de Transcripción Modificados (eTF)

[0099] Los factores de transcripción (TF) son proteínas que se unen a secuencias específicas en el genoma y controlan la expresión de genes. Los factores de transcripción modificados o eTF proporcionados en la presente son proteínas que no se presentan de manera natural que comprenden un dominio de unión a ADN (DBD) y al menos un dominio que es un modulador transcripcional, por ejemplo, ya sea un dominio de activación transcripcional (TAD) o un dominio represor transcripcional (TRD). En una modalidad, un eTF puede comprender un DBD y un TAD (por ejemplo, TAD-DBD o DBD-TAD), en donde el DBD y TAD se pueden derivar de la misma proteína

o de diferentes proteínas. En otra modalidad, un eTF puede comprender un DBD y dos TAD, en donde el DBD y los TAD se derivan de la misma proteína, el DBD se deriva de una primera proteína y ambos TAD se derivan de una segunda proteína, el DBD y un TAD se derivan de una primera proteína y el segundo TAD se deriva de una segunda proteína, o el DBD se deriva de una primera proteína, un TAD se deriva de una segunda proteína y el segundo TAD se deriva de una tercera proteína (por ejemplo, TAD1-DBD-TAD1 o TAD1-DBD-TAD2). En una modalidad, un eTF puede comprender un DBD y un TRD (por ejemplo, TRD-DBD o DBD-TRD), en donde el DBD y TRD se pueden derivar de la misma proteína o de diferentes proteínas. En otra modalidad, un eTF puede comprender un DBD y dos TRD, en donde el DBD y los TRD se derivan de la misma proteína, el DBD se deriva de una primera proteína y ambos TRD se derivan de una segunda proteína, el DBD y un TRD se derivan de una primera proteína y el segundo TRD se deriva de una segunda proteína, o el DBD se deriva de una primera proteína, un TRD se deriva de una segunda proteína, y el segundo TRD se deriva de una tercera proteína (por ejemplo, TRD1-DBD-TRD1 o TRD1-DBD-TRD2). En ciertas modalidades, el DBD puede ser una construcción sintética que contiene dominios de múltiples proteínas.

[00100] En ciertas modalidades, un DBD y un TAD se pueden conjugar directamente, por ejemplo, sin secuencia de

aminoácidos intermedia. En otras modalidades, un DBD y un TAD se pueden conjugar usando un ligador peptídico. En ciertas modalidades, un DBD se conjuga con un TAD mediante un ligador que tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, or 100 amino acids, or from 1-5, 1-10, 1-20, 1-30, 1-40, 1-50, 1-75, 1-100, 5-10, 5-20, 5-30, 5-40, 5-50, 5-75, 5-100, 10-20, 10-30, 10-40, 10-50, 10-75, 10-100, 20-30, 20-40, 20-50, 20-75, o 20-100 aminoácidos. En algunos casos, el DBD y el TAD se conjugan mediante residuos intermedios que se presentan de manera natural encontrados en las proteínas que se presentan de manera natural de las cuales se derivan los dominios. En otras modalidades, el DBD y TAD se conjugan mediante una secuencia ligadora sintética o exógena. Los ligadores adecuados pueden ser flexibles, escindibles, no escindibles, hidrófilos y/o hidrófobos. En ciertas modalidades, un DBD y un TAD se pueden fusionar conjuntamente mediante un ligador que comprende una pluralidad de residuos de glicina y/o serina. Ejemplos de igadores peptídicos de glicina/serina incluyen [GS]n, [GGGS]n (SEQ ID NO: 436), [GGGGS]n (SEQ ID NO: 437), [GGSG]n (SEQ ID NO: 438), en donde n es un número entero igual a o mayor que 1. En ciertas modalidades, un ligador útil para conjugar un DBD y un TAD es GGSGGGSG (SEQ ID NO: 410). En ciertas modalidades, cuando un DBD se conjuga con dos TAD, el primer y segundo TAD se pueden

conjugar con el DBD con el mismo o diferentes ligadores, o un TAD se puede conjugar con el DBD con un ligador y el otro TAD se conjuga directamente con el DBD (por ejemplo, sin una secuencia ligadora intermedia), o ambos TAD se pueden conjugar directamente con el DBD (por ejemplo, sin secuencias ligadoras intermedias).

[00101] Los eTF proporcionados en la presente tienen diferentes propiedades de los factores de transcripción que se presentan de manera natural. En ciertas modalidades, un eTF proporcionado en la presente comprende un DBD derivado de una proteína que se presenta de manera natural que se ha modificado de modo que el DBD se une a un sitio diana diferente en comparación con la proteína que se presenta de manera natural de la cual se derivó, el eTF que comprende este DBD modificado modula la expresión de un gen diferente en comparación con la proteína que se presenta de manera natural de la que se derivó el DBD, y/o el eTF que comprende este DBD modificado modula de manera diferente la expresión de un gen diana (por ejemplo, favorece la expresión versus reduce la expresión) en comparación con la proteína que se presenta de manera natural de la que se derivó el DBD. En otras modalidades, un eTF proporcionado en la presente comprende un TAD derivado de una proteína que se presenta de manera natural que se ha modificado de modo que el eTF que comprende este TAD modificado modula la expresión de un gen

diferente en comparación con la proteína que se presenta de manera natural de la que se derivó el TAD, y/o el eTF que comprende este TAD modificado modula de manera diferente la expresión de un gen diana (por ejemplo, favorece la expresión versus reduce la expresión) en comparación con la proteína que se presenta de manera natural de la que se derivó el TAD. En ciertas modalidades, un eTF proporcionado en la presente comprende un DBD derivado de una proteína que se presenta de manera natural y un TAD derivado de una proteína que se presenta de manera natural (ya sea la misma o diferentes proteínas), en donde tanto el DBD como TAD se han modificado. En estas modalidades, el DBD se puede unir a un sitio diana diferente en comparación con la proteína que se presenta de manera natural de la que se derivó, el eTF que comprende este TAD y DBD modificado modula la expresión de un gen diferente en comparación con las proteínas que se presentan de manera natural de cuales se derivaron los dominios, y/o el eTF que comprende este TAD y DBD modificado modula de manera diferente la expresión de un gen diana (por ejemplo, favorece la expresión versus reduce la expresión) en comparación con las proteínas que se presentan de manera natural de las cuales se derivaron los dominios DBD y TAD.

Dominios de unión a ADN (DBD)

[00102] Los eTF proporcionados en la presente pueden comprender cualquier DBD adecuado que se une a un sitio diana

de interés. En ciertas modalidades, el DBD puede ser un DBD sintéticamente diseñado. En otras modalidades, el DBD se puede derivar de una proteína que se presenta de manera natural. Las familias de DBD incluyen hélice-bucle-hélice básico (bHLH) (por ejemplo, c-Myc), cremallera de leucina básica (por ejemplo, C/EBP), hélice-giro-hélice (por ejemplo, Oct-1) y dedos de zinc (por ejemplo, EGR3). Estas familias exhiben un amplio intervalo de especificidades de unión a ADN y dianas génicas. Como se contempla en la presente, cualquiera de las proteínas de factor de transcripción de humano conocidas puede servir como una plataforma de proteínas para modificar y/o reprogramar un DBD para reconocer un sitio diana específico que da por resultado la modulación de expresión de un gen endógeno de interés. En modalidades de ejemplo, un DBD proporcionado en la presente comprende un dominio de dedo de zinc, un dominio de unión a TALEN o un complejo de ARNg/Cas.

[00103] El DBD proporcionado en la presente se puede diseñar para reconocer cualquier sitio diana de interés. En modalidades de ejemplo, un DBD se modifica para reconocer un sitio diana que es capaz de modular (por ejemplo, favorecer versus reducir) la expresión de un gen de interés cuando se une por un eTF. En modalidades de ejemplo, un DBD se diseña para reconocer una ubicación genómica y modular la expresión de un gen endógeno cuando se une por un eTF. Los sitios de

unión capaces de modular la expresión de un gen endógeno de interés cuando se unen por un eTF se pueden ubicar en cualquier parte en el genoma que da por resultado la modulación de expresión génica del gen diana. En diferentes modalidades, el sitio de unión se puede ubicar en un cromosoma diferente del interés génico, en el mismo cromosoma como el gen de interés, en la dirección 5′ del sitio de inicio transcripcional (TSS) del gen de interés, en la dirección 3′ del TSS del gen de interés, próximo al TSS del gen de interés, distal al gen de interés, dentro de la región codificadora del gen de interés, dentro de un intrón del gen de interés, en la dirección 3′ de la extremidad poliA de un gen de interés, dentro de una secuencia promotora que regula el gen de interés, dentro de una secuencia intensificadora que regula el gen de interés, o dentro de una secuencia represora que regula el gen de interés.

[00104] El DBD se puede diseñar para unirse a un sitio de unión a diana de cualquier longitud en tanto que proporcione reconocimiento específico de la secuencia de sitio de unión a diana por el DBD, por ejemplo, con mínima o sin unión fuera de diana. En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana puede modular la expresión del gen endógeno de interés cuando se une por un eTF a un nivel que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 75 veces, 100 veces, 150 veces, 200 veces, 250 veces, 500 veces o más en comparación

con todos los otros genes. En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana puede modular la expresión del gen endógeno de interés cuando se une por un eTF a un nivel que es al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 75 veces, 100 veces, 150 veces, 200 veces, 250 veces, 500 veces o mayor en comparación con los 40 genes vecinos más cercanos (por ejemplo, los 40 genes ubicados más cerca en el cromosoma, ya sea en la dirección 5’ o en la dirección 3’, de la secuencia codificadora del gen de interés). En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana puede ser al menos 5 pb, 10 pb, 15 pb, 20 pb, 25 pb, 30 pb, 35 pb, 40 pb, 45 pb o 50 pb, o más. La longitud específica del sitio de unión se informará por el tipo de DBD en el eTF. En general, mientras más larga sea la longitud del sitio de unión, mayor será la especificidad para unión y modulación de la expresión génica (por ejemplo, sitios de unión más largos tienen menos efectos fuera de diana). En ciertas modalidades, un eTF que tiene un DBD que reconoce un sitio de unión a diana más largo tiene menos efectos fuera de diana asociados con unión no específica (tal como, por ejemplo, modulación de expresión de un gen fuera de diana o gen diferente del gen de interés) con respecto a los efectos fuera de diana observados con un eTF que tiene un DBD que se une a un sitio diana más corto. En algunos casos, la reducción en la unión fuera de diana es al menos 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces

menor en comparación con un eTF comparable que tiene un DBD que reconoce un sitio de unión a diana más corto.

[00105] En ciertas modalidades, un DBD proporcionado en la presente se puede modificar para que tenga afinidad de unión incrementada de modo que se una a un sitio de unión a diana más largo de modo que un TAD conjugado con el DBD es capaz de reclutar más factores de transcripción y/o reclutar este factor de transcripción durante un período de tiempo más largo para ejercer un mayor efecto en el nivel de expresión del gen endógeno de interés. En ciertas modalidades, un eTF se puede modificar de tal forma que el DBD se une de manera estable a un sitio de unión a diana y bloquea la transcripción o la maquinaria de transcripción necesaria para expresar un gen endógeno. En ciertas modalidades, un DBD se puede modificar para incrementar su unión específica (o unión en diana) a un sitio diana deseado y/o modificado para disminuir su unión no específica o fuera diana.

[00106] En varias modalidades, se puede determinar la unión entre un DBD o eTF y un sitio de unión a diana usando varios métodos. En ciertas modalidades, la unión específica entre un DBD o eTF y un sitio de unión a diana se puede determinar usando un ensayo de desplazamiento de movilidad, ensayo de protección de DNasa o cualquier otro método *in vitro* conocido en la técnica para valorar la unión proteína-ADN. En otras modalidades, la unión específica entre un eTF y un sitio de

unión a diana se puede determinar usando un ensayo funcional, por ejemplo, al medir la expresión (de ARN o proteína) de un gen cuando el sitio de unión a diana se une por el eTF. Por ejemplo, un sitio de unión a diana se puede colocar en la dirección 5′ de un gen indicador (tal como, por ejemplo, eGFP) o el gen diana de interés en un vector contenido en una célula o integrado en el genoma de la célula, donde la célula expresa el eTF. Los mayores niveles de expresión del gen indicador (o gen diana de interés) en presencia del eTF en comparación con un control (por ejemplo, ningún eTF o eTF que reconoce un sitio diana diferente) indican que el DBD del eTF se une al sitio diana. Los sistemas transcripcionales y traduccionales *in vitro* adecuados (por ejemplo, no basados en células) también se pueden usar de manera similar. En ciertas modalidades, un eTF que se une a un sitio diana puede tener al menos 2 veces, 3 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 50 veces, 75 veces, 100 veces, 150 veces o más expresión del gen indicador o gen diana de interés en comparación con un control (por ejemplo, ningún eTF o eTF que reconoce un sitio diana diferente).

[00107] En otras modalidades, un eTF proporcionado en la presente puede comprender un DBD de una proteína de dedo de zinc, derivada de una proteína de dedo de zinc, o que es una nucleasa es una proteína de dedo de zinc inactivada. Un dedo de zinc es un pequeño motivo estructural proteico que se

caracteriza por la coordinación de uno o más iones de zinc (Zn^{2+}) a fin de estabilizar el doblez. Los dominios de dedo de zinc (Znf) son motivos proteicos relativamente pequeños que contienen múltiples protuberancias tipo dedo que hacen contactos en tándem con un sitio diana de ADN. La naturaleza modular del motivo de dedo de zinc permite que un gran número de combinaciones de secuencias de ADN se unan con un alto grado de afinidad y especificidad, y por lo tanto es ideal para modificar proteínas que se pueden dirigir a y unir a secuencias de ADN específicas. Muchos arreglos de dedos de zinc diseñados se basan en el dominio de dedo de zinc del factor de transcripción murino Zif268. Zif268 tiene tres motivos de dedos de zinc individuales que se unen colectivamente a una secuencia de 9 pb con alta afinidad. Se ha identificado una amplia variedad de proteínas de dedos de zinc y se caracterizan en diferentes tipos en función de la estructura como se describe adicionalmente en la presente. Cualquier proteína de dedo de zinc de este tipo es útil en conexión con los DBD descritos en la presente.

[00108] Están disponibles varios métodos para diseñar proteínas de dedos de zinc. Por ejemplo, se describen métodos para diseñar proteínas de dedo de zinc para unirse a una secuencia de ADN diana de interés, véase, por ejemplo, Liu Q, et al., Design of polydactyl zinc-finger proteins for unique addressing within complex genomes, Proc Natl Acad Sci

USA. 94 (11): 5525–30 (1997); Wright DA et al., Standardized reagents and protocols for engineering zinc finger nucleases by modular assembly, Nat Protoc . Nat Protoc. 2006;1(3):1637-52; y CA Gersbach y T Gaj, Synthetic Zinc Finger Proteins: The Advent of Targeted Gene Regulation and Genome Modification Technologies, Am Chem Soc 47: 2309–2318 (2014). Además, varias herramientas basadas en web para diseñar proteínas de dedos de zinc para unirse a una secuencia diana de ADN de interés están disponibles públicamente, véase, por ejemplo, las Herramientas de software de diseño de nucleasa de dedos de zinc y el sitio web de análisis de datos de ingeniería de genomas OmicX disponibles en la telaraña mundial en omictools.com/zfns-category; y el sitio web de diseño de herramientas de dedos de zinc de Scripps disponible en la telaraña mundial en scripps.edu/barbas/zfdesign/zfdesignhome.php. Además, se encuentran disponibles varios servicios disponibles comercialmente para diseñar proteínas de dedos de zinc para unirse a una secuencia diana de ADN de interés, véase, por ejemplo, los servicios o kits disponibles comercialmente ofrecidos por Creative Biolabs (telaraña mundial en creative-biolabs.com/Design-and-Synthesis-of-Artificial-Zinc-Finger-Proteins.html), el Kit de montaje modular de Zinc Finger Consortium disponible en Addgene (telaraña mundial en addgene.org/kits/zfc-modular-assembly/), o el Servicio ZFN

personalizado CompoZr de Sigma Aldrich (telaraña mundial en sigmaaldrich.com/life-science/zinc-finger-nuclease-technology/custom-zfn.html).

[00109] En ciertas modalidades, los eTF proporcionados en la presente comprenden un DBD que comprende uno o más dedos de zinc o se deriva de un DBD de una proteína de dedo de zinc. En algunos casos, el DBD comprende múltiples dedos de zinc, donde cada dedo de zinc está unido a otro dedo de zinc u otro dominio ya sea en su extremo N o extremo C, o ambos mediante un ligador de aminoácido. En algunos casos, un DBD proporcionado en la presente comprende uno o más dedos de zinc de uno o más de los tipos de dedos de zinc descritos en la **TABLA 5**. En algunos casos, un DBD proporcionado en la presente comprende una pluralidad de estructuras o motivos de dedos de zinc o múltiples dedos de zinc que tienen una o más SEQ ID NO: 115-130 o 141-164, o cualquier combinación de los mismos. En ciertas modalidades, un DBD comprende X—[ZF—X]n y/o [X—ZF]n—X, en donde ZF es un dominio de dedo de zinc que tiene cualquiera de los motivos enumerados en la **TABLA 5** (por ejemplo, cualquiera de SEQ ID NO: 39-49), X es un ligador de aminoácidos que comprende 1-50 aminoácidos, y n es un número entero de 1-15, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15, en donde cada ZF puede tener independientemente la misma secuencia o una secuencia diferente de las otras secuencias ZF en el DBD, y en donde

cada ligador X puede tener independientemente la misma secuencia o una secuencia diferente de las otras secuencias X en el DBD. Cada dedo de zinc se puede unir o enlazar a otra secuencia, dedo de zinc o dominio en su extremo C-terminal, extremo N-terminal o ambos. En un DBD, cada ligador X puede ser idéntico en secuencia, longitud y/o propiedad (por ejemplo, flexibilidad o carga), o ser diferente en secuencia, longitud y/o propiedad. En algunos casos, dos o más ligadores pueden ser idénticos, en tanto que otros ligadores son diferentes. En modalidades de ejemplo, el ligador se puede obtener o derivar de las secuencias que conectan los dedos de zinc que se encuentran en una o más proteínas de dedos de zinc de origen natural proporcionadas en la **TABLA 5**. En otras modalidades, las secuencias ligadoras adecuadas incluyen, por ejemplo, ligadores de 5 o más aminoácidos de longitud. Ver, también, patentes de Estados Unidos No. 6,479,626; 6,903,185; y 7,153,949 para ejemplos de secuencias ligadoras de 6 o más aminoácidos de longitud, cada una de las cuales se incorpora a la presente en su totalidad. Las proteínas de DBD proporcionadas en la presente pueden incluir cualquier combinación de ligadores adecuados entre los dedos de zinc individuales de la proteína. Las proteínas de DBD descritas en la presente pueden incluir cualquier combinación de ligadores adecuados entre los dedos de zinc individuales de la proteína.

[00110] En ciertas modalidades, un DBD proporcionado en la presente comprende uno o más dedos de zinc clásicos. Un dedo de zinc C2H2 clásico tiene dos cisteínas en una cadena y dos residuos de histidina en otra cadena, coordinados por un ion de zinc. Un dominio de dedo de zinc clásico tiene dos láminas β y una hélice α, en donde la hélice α interactúa con una molécula de ADN y forma la base de la unión de DBD a un sitio diana y se puede denominar "hélice de reconocimiento". En modalidades de ejemplo, la hélice de reconocimiento de un dedo de zinc comprende al menos una sustitución de aminoácido en la posición -1, 2, 3 o 6, cambiando así la especificidad de unión del dominio de dedo de zinc. En otras modalidades, un DBD proporcionado en la presente comprende uno o más dedos de zinc no clásicos, por ejemplo, C2–H2, C2–CH y C2–C2.

[00111] En otra modalidad, un dominio DBD proporcionado en la presente comprende un motivo de dedo de zinc que tiene la siguiente estructura: LEPGEKP – [YKCPECGKSFS X HQRTH TGEKP]n - YKCPECGKSFS X HQRTH – TGKKTS (SEQ ID NO: 421), en donde n es un número entero de 1-15, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15, y cada X independientemente es una secuencia de reconocimiento (por ejemplo, una hélice de reconocimiento) capaz de unirse a 3 pb de la secuencia diana. En modalidades de ejemplo, n es 3, 6 o 9. En una modalidad particularmente preferida, n es 6. En diferentes modalidades, cada X puede tener independientemente la misma

secuencia de aminoácidos o una secuencia de aminoácidos diferente en comparación con otras secuencias X en el DBD. En una modalidad de ejemplo, cada X es una secuencia que comprende 7 aminoácidos que se ha diseñado para interactuar con 3 pb del sitio de unión a diana de interés usando la herramienta de diseño de dedos de zinger de Scripps ubicada en una telaraña mundial en scripps.edu/barbas/zfdesign/zfdesignhome.php.

[00112] Puesto que cada dedo de zinc dentro de un DBD reconoce 3 pb, la cantidad de dedos de zinc incluidos en el DBD informa de la longitud del sitio de unión reconocido por el DBD, por ejemplo, un DBD con 1 dedo de zinc reconocerá un sitio de unión a diana que tiene 3 pb, un DBD con 2 dedos de zinc reconocerá un sitio de unión a diana que tiene 6 pb, un DBD con 3 dedos de zinc reconocerá un sitio de unión a diana que tiene 9 pb, un DBD con 4 dedos de zinc reconocerá un sitio de unión a diana que tiene 12 pb, un DBD con 5 dedos de zinc reconocerá un sitio de unión a diana que tiene 15 pb, un DBD con 6 dedos de zinc reconocerá un sitio de unión a diana que tiene 18 pb, un DBD con 9 dedos de zinc reconocerá un sitio de unión a diana que tiene 27 pb, etc. En general, el DBD que reconoce los sitios de unión a diana más largos exhibirá mayor especificidad de unión (por ejemplo, menos unión fuera de diana o no específica).

[00113] En otras modalidades, un DBD proporcionado en la

presente se deriva de una proteína de dedo de zinc que se presenta de manera natural al realizar una o más sustituciones de aminoácidos en una o más hélices de reconocimiento de los dominios de dedos de zinc para cambiar la especificidad de unión del DBD (por ejemplo, cambiar el sitio diana reconocido por el DBD). El DBD proporcionado en la presente se puede derivar de cualquier proteína de dedo de zinc que se presenta de manera natural. En diversas modalidades, este DBD se puede derivar de una proteína de dedo de zinc de cualquier especie, por ejemplo, un ratón, rata, humano, etc. En una modalidad de ejemplo, un DBD proporcionado en la presente se deriva de una proteína de dedo de zinc humano. En ciertas modalidades, un DBD proporcionado en la presente se deriva de una proteína que se presenta de manera natural enumerada en la **TABLA 5**. En una modalidad de ejemplo, una proteína de DBD proporcionada en la presente se deriva de una proteína de dedo de zinc de EGR humana, por ejemplo, EGR1, EGR2, EGR3 o EGR4.

[00114] En ciertas modalidades, un DBD proporcionado en la presente se deriva de una proteína que se presenta de manera natural al modificar el DBD para aumentar la cantidad de dominios de dedos de zinc en la proteína de DBD al repetir uno o más dedos de zinc dentro del DBD de la proteína que se presenta de manera natural. En ciertas modalidades, estas modificaciones incluyen duplicación, triplicación,

cuadruplicación o multiplicación adicional de los dedos de zinc dentro del DBD de la proteína que se presenta de manera natural. En algunos casos, un dedo de zinc de un DBD de una proteína humana se multiplica, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más copias del mismo motivo de dedo de zinc se repite en el DBD del eTF. En algunos casos, un conjunto de dedos de zinc de un DBD de una proteína de origen natural se multiplica, por ejemplo, un conjunto de 3 dedos de zinc de un DBD de una proteína de origen natural se duplica para proporcionar un eTF que tiene un DBD con 6 dedos de zinc, se triplica para proporcionar un DBD de un eTF con 9 dedos de zinc, o se cuadruplica para proporcionar un DBD de un eTF con 12 dedos de zinc, etc. En algunos casos, un conjunto de dedos de zinc de un DBD de una proteína de origen natural se replica parcialmente para formar un DBD de un eTF que tiene una mayor cantidad de dedos de zinc, por ejemplo, un DBD de un eTF comprende cuatro dedos de zinc donde los dedos de zinc representan una copia del primer dedo de zinc, una copia del segundo dedo de zinc y dos copias de un tercer dedo de zinc de una proteína de origen natural para un total de cuatro dedos de zinc en el DBD del eTF. Este DBD luego se modifica adicionalmente al realizar una o más sustituciones de aminoácidos en una o más hélices de reconocimiento de los dominios de dedos de zinc para cambiar la especificidad de unión del DBD (por ejemplo, cambiar el sitio diana reconocido

por el DBD). En modalidades de ejemplo, el DBD se deriva de una proteína humana de origen natural, tal como una proteína de dedo de zinc de EGR humana, por ejemplo, EGR1, EGR2, EGR3 o EGR4.

[00115] EGR1 y EGR3 humanos se caracterizan por un DBD de dedo de zinc C2H2 de tres dedos. Las reglas de unión genéricas para dedos de zinc preevé que los tres dedos interactúan con su secuencia de ADN cognada con geometría similar, usando los mismos aminoácidos en la hélice alfa de cada dedo de zinc para determinar la especificidad o reconocimiento de la secuencia de sitio de unión a diana. Estas reglas de unión permiten modificar el DBD de EGR1 o EGR3 para modificar genéticamente un DBD que reconoce un sitio de unión a diana deseado. En algunos casos, la hélice de reconocimiento de ADN de 7 aminoácidos en un motivo de dedo de zinc de EGR1 o EGR3 se modifica de acuerdo con las reglas publicadas de diseño de dedo de zinc. En ciertas modalidades, cada dedo de zinc en el DBD de tres dedos de EGR1 o EGR3 se modifica, por ejemplo, al alterar la secuencia de una o más hélices de reconocimiento y/o al aumentar la cantidad de dedos de zinc en el DBD. En ciertas modalidades, EGR1 o EGR3 se reprograma para reconocer un sitio de unión a diana de al menos 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36 o más pares de bases en un sitio diana deseado. En ciertas modalidades, este DBD derivado de ERG1 o EGR3 comprende al

menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más dedos de zinc. En una modalidad de ejemplo, uno o más de los dedos de zinc en el DBD comprende al menos una sustitución de aminoácido en la posición -1, 2, 3 o 6 de la hélice de reconocimiento.

[00116] En diferentes modalidades, un eTF que comprende un DBD derivado de EGR1 o EGR3 tiene una especificidad de unión a ADN que es diferente de la especificidad de unión de EGR1 o EGR3 que se presenta de manera natural, por ejemplo, el DBD reconoce un sitio de unión a diana que tiene una secuencia diferente de la secuencia del sitio de unión reconocido por EGR1 o EGR3 no modificada: (GCG(T/G)GGGCG) (SEQ ID NO: 373).

[00117] En otras modalidades, un eTF proporcionado en la presente comprende un DBD que es un complejo de ARNg/Cas. CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas entrelazadas regularmente agrupadas)/Cas9 es una herramienta de edición de genoma que permite el direccionamiento genómico específico del sitio. El sistema CRISPR/Cas tipo II es un sistema de respuesta inmunitaria adaptativa procariota que utiliza ARN no codificantes para guiar la nucleasa Cas9 para inducir la escisión de ADN específica del sitio. El sistema CRISPR/Cas9 se ha aprovechado para crear un método simple programable por ARN para mediar la edición del genoma en células de mamíferos. Se puede generar un ARN guía simple (ARNsg) para dirigir la nucleasa Cas9 a una ubicación genómica específica que luego se une por el complejo de ARNg/Cas9. Un ARNg se

puede diseñar para unirse a un sitio diana de interés usando varios métodos y herramientas. Por ejemplo, los métodos para diseñar ARNg para unirse a una secuencia de ADN diana de interés se describen en Aach, et al. Flexible algorithm for identifying specific Cas9 targets in genomes. BioRxiv, Cold Spring Harbor Labs. doi: http://dx.doi.org/10.1101/005074 (2014); Bae, et al. Cas-OFFinder: a fast and versatile algorithm that searches for potential off-target sites of Cas9 RNA-guided endonucleases. Bioinformatics. 30(10):1473–1475 (2014); Doench, J. G. et al. Optimized sgRNA design to maximize activity and minimize off-target effects of CRISPR-Cas9. Nat Biotech 34, 184–191 (2016); Gratz, et al. Highly specific and efficient CRISPR/Cas9-catalyzed homology-directed repair in Drosophila. Genetics. 196(4):961–971 (2014); Heigwer, et al. E-CRISP: fast CRISPR target site identification. Nat Methods. 11(2):122–123 (2014); Ma, et al. A guide RNA sequence design platform for the CRISPR/Cas9 system for model organism genomes. Biomed Res Int. doi:http://doi.org/10.1155/2013/270805 (2013); Montague, et al. CHOPCHOP: un CRISPR/Cas9 y herramienta en la web TALEN para edición de genomas. Nucleic Acids Res. 42(W1):W401–W407 (2014); Liu, et al. CRISPR-ERA: a comprehensive design tool for CRISPR-mediated gene editing, repression and activation. Bioinformatics. 31(22):3676–3678 (2015); Ran, et al. *In vivo* genome editing using Staphylococcus aureus Cas9. Nature.

520(7546):186–191 (2015); Wu, et al. Target specificity of the CRISPR-Cas9 system. Quant Biol. 2(2):59–70 (2015); Xiao, et al. CasOT: a genome-wide Cas9/gRNA off-target searching tool. Bioinformatics. 30(8):1180–1182 (2014); Zetsche, et al. Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System. Cell. 163(3):759–771 (2015). Además, varias herramientas basadas en la web para diseñar ARNg para unirse a una secuencia diana de ADN de interés están disponibles públicamente, ver, por ejemplo, la herramienta de diseño de ARNg CRISPR disponible de AUTM en la telaraña mundial en atum.bio/eCommerce/cas9/input?multipleContacts=false; la herramienta de diseño de ARNg CRISPRa/i disponible en el Broad Institute en la telaraña mundial en portals.broadinstitute.org/gpp/public/analysis-tools/sgrna-design-crisprai; la herramienta de diseño de E-CRISP disponible de DKFZ German Cancer Research Center disponible en la telaraña mundial en e-crisp.org/E-CRISP/; y la herramienta de diseño de guía de inactivación disponible de Synthego en la telaraña mundial en design.synthego.com/#/. Además, se encuentran disponibles varios servicios disponibles comercialmente para diseñar ARNg para unirse a una secuencia diana de ADN de interés, véase, por ejemplo, los servicios disponibles comercialmente ofrecidos por IDT (telaraña mundial en idtdna.com/site/order/designtool/index/CRISPR_SEQUENCE),

ThermoFisher (telaraña mundial en thermofisher.com/order/custom-oligo/crispr), y GenScript (telaraña mundial en genscript.com/gRNA-design-tool.html).

[00118] En modalidades de ejemplo, un DBD que es un complejo de ARNg/Cas comprende una proteína Cas desactivada por nucleasa o dCas, tal como, por ejemplo, una dCas9, tal como Cas9 de *Staphylococcus aureus* desactivada por nucleasa (dSaCas9) o de *Streptococcus pyogenes* desactivada por nucleasa (dSpCas9). El ARNg se proporciona como una secuencia que comprende una región de direccionamiento, que dirige el complejo de ARNg/Cas a un sitio diana deseado, y una región de andamio, que facilita la interacción con la proteína Cas. Cualquier andamio de ARNg adecuado se puede usar en conexión con los ARNg proporcionados en la presente. En una modalidad de ejemplo, el ARNg es un ARNg individual o ARNsg y comprende la siguiente secuencia de andamio: 5’-GTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGA-3’ (SEQ ID NO: 102). La región de direccionamiento del ARN guía se une al extremo 5’ de la secuencia de andamio para formar el ARNsg completo. En ciertas modalidades, un ARNg y una proteína dCas se pueden expresar a partir del mismo casete de expresión. En ciertas modalidades, se usa un promotor U6 para expresar el ARNg. En otras modalidades, un ARNg se puede expresar en una célula que se ha modificado para expresar de forma estable la

proteína dCas-TAD, por ejemplo, ya sea al integrar de manera estable la dCas en el genoma o en un plásmido que se mantiene de forma estable extracromosómicamente.

[00119] En otras modalidades, un eTF proporcionado en la presente puede comprender un DBD de una TALEN, derivado de una TALEN, o que es una nucleasa es TALEN inactivada. Las nucleasas efectoras tipo activador de transcripción (TALEN) son enzimas de restricción que contienen un DBD y un dominio de nucleasa que se pueden modificar para cortar secuencias específicas de ADN. Las TALEN se crean conjugando un dominio de unión a ADN efector TAL a un dominio de escisión de ADN (por ejemplo, una nucleasa). Los efectores tipo activador de transcripción (los TALE) se pueden modificar para unirse a una secuencia de ADN diana deseada, dirigiendo de este modo el dominio de nucleasa a una ubicación específica.

[00120] Los efectores TAL son proteínas bacterianas de la bacteria *Xanthomonas*. El dominio de unión a ADN contiene una secuencia de 33–34 aminoácidos altamente conservada repetida con el 12o y 13o aminoácido divergentes. Estas dos posiciones, referidas Diresiduo Variable Repetido (RVD), son altamente variables y muestran una fuerte correlación con el reconocimiento de nucleótidos específicos. Esta relación directa entre la secuencia de aminoácidos y el reconocimiento de ADN permite la modificación de DBD que se dirigen específicamente a una secuencia deseada mediante la selección

de una combinación de segmentos de repetición que contienen los RVD adecuados.

[00121] Están disponibles varios métodos para diseñar TALE. Por ejemplo, los métodos para diseñar TALE para unirse a una secuencia de ADN diana de interés se describen en T. Cermak et al., *Nucleic Acids Research*. **39** (12): e82 (2011); F. Zhang F et al., *Nature Biotechnology*. **29** (2): 149–53 (2011); R. Morbitzer et al., *Nucleic Acids Research*. **39** (13): 5790–9 (2011); T. Li et al., *Nucleic Acids Research*. **39** (14): 6315–25 (2011); R. Geissler et al., *PLOS One*. **6**(5): e19509 (2011); y E. Weber et al., *PLOS One*. **6** (5): e19722 (2011). Además, varias herramientas basadas en la web para diseñar TALE para unirse a una secuencia diana de ADN de interés están disponibles públicamente, ver, por ejemplo, el E-Talen disponible en la telaraña mundial en e-talen.org/E-TALEN/TAL y la herramienta Effector Nucleotide Targeter 2.0 disponible en la telaraña mundial en tale-nt.cac.cornell.edu/node/add/single-tale. Además, se encuentran disponibles varios servicios comercialmente disponibles para diseñar TALE para unirse a una secuencia diana de ADN de interés, ver, por ejemplo, los servicios comercialmente disponibles ofrecidos por OmicX (telaraña mundial en omictools.com/), Addgene (telaraña mundial en addgene.org/talen/guide/), o ThermoFisher (telaraña mundial en thermofisher.com/us/en/home/life-science/genome-

editing/geneart-tals/tal-design-tool.html). Además, el programa de software disponible públicamente (DNAWorks) se puede usar para diseñar oligonucleótidos adecuados para montar los TALE, ver, por ejemplo, D. Hoover D *Methods in Molecular Biology*. **852**: 215-23 (2012).

Dominios de Modulación Transcripcional

[00122] Los eTF proporcionados en la presente pueden comprender cualquier dominio adecuado que es capaz de reclutar uno o más factores de proteína que pueden modular la transcripción (por ejemplo, ARN polimerasa II, CBP/p300, CREB o KRAB) o el nivel de expresión génica de un gen de interés cuando el eTF se une a un sitio diana mediante el DBD (por ejemplo, un DBD de dedo de zinc, DBD de ARNg/Cas o DBD de TALE). En ciertas modalidades, este dominio recluta factores de proteína que incrementan el nivel de transcripción o expresión génica de un gen de interés y es un dominio de activación transcripcional (TAD). En otras modalidades, este dominio recluta factores de proteína que disminuyen el nivel de transcripción o expresión génica de un gen de interés y es un dominio represor transcripcional (TRD). En ciertas modalidades, el dominio de modulación transcripcional (TAD o TRD) puede ser un dominio sintéticamente diseñado. En otras modalidades, el dominio de modulación transcripcional (TAD o TRD) se puede derivar de una proteína que se presenta de manera natural, por ejemplo, un factor de transcripción, un

co-activador transcripcional, un co-represor transcripcional o una proteína silenciadora. En diferentes modalidades, el dominio de modulación transcripcional (TAD o TRD) se puede derivar de una proteína de cualquier especie, por ejemplo, un ratón, rata, mono, virus o humano.

[00123] En una modalidad de ejemplo, un TAD adecuado para uso en los eTF proporcionados en la presente se deriva de una proteína viral. Los TAD de ejemplo derivados de proteínas virales incluyen, por ejemplo, un dominio TAD de VP64 (SEQ ID NO: 95), VPR (SEQ ID NO: 114), VP16, VP128, p65, p300, o cualquier fragmento funcional o variante de las mismas, o una secuencia que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las mismas.

[00124] En otra modalidad de ejemplo, un TAD adecuado para uso en los eTF proporcionados en la presente se deriva de una proteína humana. Los TAD de ejemplo derivados de proteínas humanas incluyen, por ejemplo, un dominio TAD del transactivador 2 que interactúa con CBP/p300 (CITED2) (SEQ ID NO: 96 o 98), el transactivador 4 que interactúa con CBP/p300 (CITED4) (SEQ ID NO: 97 o 100), EGR1 (SEQ ID NO: 1), o EGR3 (SEQ ID NO: 422), o cualquier fragmento funcional o variante de las mismas, o una secuencia que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las mismas.

[00125] En otra modalidad, un TRD adecuado para uso en los eTF proporcionados en la presente comprende un dominio KRAB que puede reclutar proteínas que inhiben la transcripción, o cualquier fragmento funcional o variante de las mismas, o una secuencia que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las mismas.

[00126] En ciertas modalidades, un DBD de dedo de zinc se conjuga a un dominio de modulación transcripcional tal como TAD o TRD como se describe adicionalmente a continuación. En diferentes modalidades, el DBD de dedo de zinc se puede conjugar a un TAD de una proteína viral, tal como VP64 o VPR, o un TAD de una proteína humana, tal como CITED2 o CITED4. En ciertas modalidades, un DBD de dedo de zinc derivado de una proteína humana, por ejemplo, EGR1 o EGR3, se conjuga a un TAD derivado de una proteína humana, por ejemplo, CITED2 o CITED4. En ciertas modalidades, un DBD de dedo de zinc derivado de una proteína humana, por ejemplo, EGR1 o EGR3, se conjuga a un TAD de VP64 o VPR. En ciertas modalidades, un DBD de dedo de zinc sintético o DBD de dedo de zinc que tiene menos de 75% de identidad de secuencia a una proteína humana, por ejemplo, EGR1 o EGR3, se conjuga a un TAD derivado de una proteína humana, por ejemplo, CITED2 o CITED4. En ciertas modalidades, un DBD de dedo de zinc sintético o DBD de dedo de zinc que tiene menos de 75% de identidad de secuencia a

una proteína humana, por ejemplo, EGR1 o EGR3, se conjuga a un TAD de VP64 o VPR.

[00127] En ciertas modalidades, una proteína dCas se conjuga a un dominio de modulación transcripcional tal como TAD o TRD como se describe adicionalmente a continuación. En diferentes modalidades, la dCas9 se puede conjugar a un TAD de una proteína viral, tal como VP64 o VPR, o un TAD de una proteína humana, tal como CITED2 o CITED4. En modalidades de ejemplo, una dCas9 se conjuga a un TAD de VP64 o VPR.

[00128] En ciertas modalidades, una proteína TALE se conjuga a un dominio de modulación transcripcional tal como TAD o TRD como se describe adicionalmente a continuación. En diferentes modalidades, TALE se puede conjugar a un TAD de una proteína viral, tal como VP64 o VPR, o un TAD de una proteína humana, tal como CITED2 o CITED4. En modalidades de ejemplo, TALE se conjuga a un TAD de VP64 o VPR.

eTF que favorecen la expresión de SCN1A

[00129] En un aspecto, la solicitud proporciona los eTF que son capaces de favorecer la expresión del gen del canal de sodio regulador por voltaje subunidad alfa 1 (SCN1A) y aumentar la expresión de su producto proteico correspondiente Nav1.1. El gen SCN1A pertenece a una familia de genes que codifican para subunidades usadas para montar canales de sodio. Estos canales, que transportan iones de sodio positivamente cargados a las células, juegan un papel clave

en la capacidad de una célula para generar y transmitir señales eléctricas. El gen SCN1A codifica una parte (la subunidad alfa) de un canal de sodio llamado Nav1.1. Estos canales se encuentran principalmente en el cerebro, donde controlan el flujo de iones de sodio en las células. Los canales Nav1.1 se implican al transmitir señales de una célula nerviosa (o neurona) a otra. Se ha encontrado que varias mutaciones en el gen SCN1A provocan epilepsia genética con convulsiones febriles plus (GEFS+), que es un espectro de trastornos convulsivos de diversa gravedad. Estas condiciones incluyen convulsiones febriles simples (asociadas con fiebre), que comienzan en la infancia y usualmente se detienen a los 5 años, y convulsiones febriles plus (FS+). FS+ implica convulsiones febriles y otros tipos de convulsiones, incluyendo aquellas no relacionadas con fiebres (convulsiones afebriles), que continúan más allá de la infancia. El espectro GEFS+ también incluye otras condiciones, tal como síndrome de Dravet (también conocido como epilepsia mioclónica grave de la infancia o SMEI), que provocan convulsiones más serias que duran más tiempo y pueden ser difíciles de controlar. Estas convulsiones recurrentes (epilepsia) pueden empeorar con el paso del tiempo y frecuentemente se acompañan por un deterioro de función cerebral. Muchas otras mutaciones se han asociado con migraña hemipléjica familiar, una forma de dolor de cabeza

por migraña que se presenta en familias y al menos una mutación se ha asociado con la eficacia de ciertos medicamentos anticonvulsivos. Por lo tanto, un eTF proporcionado en la presente que incrementa la expresión de SCN1A se puede usar para tratar una variedad de enfermedades o trastornos asociados con mutaciones en el canal Nav1.1.

[00130] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que tiene al menos 9pb, 12pb, 15pb, 18pb, 21pb, 24pb, 27pb, 30pb, 33pb o 36pb de tamaño; más de 9pb, 12pb, 15pb, 18pb, 21pb, 24pb, 27pb o 30pb; o de 9-33pb, 9-30pb, 9-27pb, 9-24pb, 9-21pb, 9-18pb, 9-15pb, 9-12pb, 12-33pb, 12-30pb, 12-27pb, 12-24pb, 12-21pb, 12-18pb, 12-15pb, 15-33pb, 15-30pb, 15-27pb, 15-24pb, 15-21pb, 15-18pb, 18-33pb, 18-30pb, 18-27pb, 18-24pb, 18-21pb, 21-33pb, 21-30pb, 21-27pb, 21-24pb, 24-33pb, 24-30pb, 24-27pb, 27-33pb, 27-30pb o 30pb. En modalidades de ejemplo, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que es 18-27 pb, 18 pb o 27 pb.

[00131] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que se ubica en el cromosoma 2. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que se ubica en el cromosoma 2 dentro de 110 kb, 100 kb, 90 kb, 80

kb, 70 kb, 60 kb, 50 kb, 40 kb, 30 kb, 20 kb, 10 kb, 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb o 1 kb en la dirección 5’ o en la dirección 3’ del TSS de SCN1A. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que se ubica en el cromosoma 2 dentro de 110 kb en la dirección 5’ del TSS de SCN1A. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que se ubica en el cromosoma 2 dentro de 110 kb en la dirección 5’ del TSS de SCN1A. En modalidades de ejemplo, estos sitios de unión a diana son 18-27 pb, 18 pb o 27 pb.

[00132] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que se ubica en el cromosoma 2 dentro de las posiciones 166179652-165989571, dentro de las posiciones 166128050-166127958, dentro de las posiciones 166155414-166140590, dentro de las posiciones 166179652-1661777272 o dentro de las posiciones 1659990246-165989592 (todas con referencia a GRCh38.p12). En modalidades de ejemplo, estos sitios de unión a diana son 18-27 pb, 18 pb o 27 pb.

[00133] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, (ii) se traslapa con una posición en el cromosoma 2 seleccionada de 166178880, 166178871, 166177369, 166177362, 166177299,

166177299, 166155393, 166155264, 166149373, 166149176, 166149165, 166149118, 166148953, 166148565, 166142396, 166142391, 166142344, 166142239, 166141162, 166140928, 166140590, 165990076, 165989684, 165989571, 166155255, 166155099, 166148843, 166148361, 166142219, 166141090, 165990246, 165990193, 166149168, 166127991, 166128002, 166128037 o 166128025 (todas con referencia a GRCh38.p12), y (iii) es capaz de producir al menos un incremento de 1.2 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00134] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A (i) se une a un sitio diana que comprende o que consiste en cualquiera de SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267 y (ii) es capaz de producir al menos un incremento de 1.2 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00135] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, (ii) se traslapa con una posición en el cromosoma 2 seleccionada de 166155255, 166155099, 166148843, 166148361, 166142219, 166141090, 165990246, 165990193, 166149168, 166127991, 166128002, 166128037 o 166128025 (todas con referencia a GRCh38.p12), y (iii) es capaz de producir al menos un

incremento de 2 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00136] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A (i) se une a un sitio diana que comprende o que consiste en cualquiera de SEQ ID NO: 35-36, 108-109, 136, 209-210, 226, 228, 233, 236, o 247-248 y (ii) es capaz de producir al menos un incremento de 2 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00137] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, y (ii) se traslapa con una posición en el cromosoma 2 seleccionada de 166149168, 166127991, 166128002, 166128037 o 166128025 (todas con referencia a GRCh38.p12), y (iii) es capaz de producir al menos un incremento de 5 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00138] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A (i) se une a un sitio diana que comprende o que consiste en cualquiera de SEQ ID NO: 35, 36, 108, 109, o 136 y (ii) es capaz de producir al menos un incremento de 5 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00139] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio

de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, (ii) se traslapa con una posición en el cromosoma 2 seleccionada de 166128002, 166128037 o 166128025 (todas con referencia a GRCh38.p12), y (iii) es capaz de producir al menos un incremento de 15 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00140] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A (i) se une a un sitio diana que comprende o que consiste en cualquiera de SEQ ID NO: 36, 108 o 109 y (ii) es capaz de producir al menos un incremento de 15 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00141] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, (ii) se traslapa con una posición en el cromosoma 2 seleccionada de 166128037 o 166128025 (todas con referencia a GRCh38.p12), y (iii) es capaz de producir al menos un incremento de 20 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00142] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A (i) se une a un sitio diana que comprende o que consiste en cualquiera de SEQ ID NO: 36 o 109 y (ii) es capaz de producir al menos un incremento de 20 veces en la expresión de SCN1A cuando se une

por un eTF descrito en la presente.

[00143] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, (ii) se traslapa con una posición en el cromosoma 2 en la posición 166128025, y (iii) es capaz de producir al menos un incremento de 25 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00144] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A (i) se une a un sitio diana que comprende o que consiste de SEQ ID NO: 36 y (ii) es capaz de producir al menos un incremento de 25 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00145] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, y (ii) se une a una región genómica que está dentro de al menos 1 kb, 750 pb, 500 pb, 400 pb, 300 pb, 200 pb, 100 pb o 50 pb de una ubicación genómica que tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267. En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana es capaz de producir al menos un incremento de 1.2 veces, 2 veces, 5 veces, 15 veces, 20 veces o 25 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00146] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, y (ii) se une a una región genómica que se traslapa al menos parcialmente con una ubicación genómica que tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267. En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana es capaz de producir al menos un incremento de 1.2 veces, 2 veces, 5 veces, 15 veces, 20 veces o 25 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00147] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A reconoce un sitio de unión a diana que tiene cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267. En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana es capaz de producir al menos un incremento de 1.2 veces, 2 veces, 5 veces, 15 veces, 20 veces o 25 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00148] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A da por resultado al menos 1.5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, 100 veces o más, o al menos un

50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más de favorecimiento de la expresión de SCN1A (ARN de SCN1A y/o proteína Nav1.1) en una célula o *in vivo* en comparación con un control (por ejemplo, ningún eTF o eTF que no reconoce el sitio diana). En diferentes modalidades, se puede detectar el favorecimiento de la expresión de SCN1A usando métodos PCR, transferencia Western o inmunoensayos.

[00149] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A se une a un sitio diana que es capaz de incrementar la expresión de SCN1A por al menos 1.2 veces, 1.3 veces, 1.4 veces, 1.5 veces, 1.6 veces, 1.7 veces, 1.8 veces, 1.9 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 8 veces, 10 veces, 12 veces, 15 veces, 18 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 75 veces, 100 veces o más o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más con respecto a un control en un ensayo de activación transcripcional. Un ensayo de activación transcripcional de SCN1A de ejemplo se proporciona en la presente en el Ejemplo 3. Brevemente, HEK293 se transfectan con un plásmido que porta un eTF o una construcción indicadora de eGFP de control. 48 horas después de la transfección, se recolectan células, se aísla el ARN y se transcribe de manera inversa y las muestras de ADNc

resultantes se analizan por qPCR (por ejemplo, usando cebadores que tienen SEQ ID NO: 190 y 191) para cuantificar los niveles de transcripto SCN1A endógeno. GAPDH se puede usar como un gen de referencia para determinar niveles relativos de expresión de SCN1A.

[00150] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A tiene efectos mínimos fuera de diana, por ejemplo, efectos fuera de diana asociados con unión no específica tal como, por ejemplo, modulación de expresión de un gen fuera de diana o gen diferente de SCN1A. En una modalidad, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A, favorece específicamente la expresión de SCN1A en comparación con un control por al menos 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces o 50 veces más que la expresión producida por el eTF para uno o más genes fuera de la diana en comparación con un control. En una modalidad de ejemplo, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A, favorece específicamente la transcripción del gen SCN1A en comparación con un control por al menos 15 veces mayor que la transcripción de los 40 genes vecinos más cercanos (por ejemplo, los 40 genes más cercanos ubicados a la secuencia codificadora de SCN1A en el cromosoma 2) producidos por el eTF con respecto a un control, por ejemplo, PLA2R1, ITGB6, RBMS1, TANK, PSMD14, TBR1, SLC4A10, DPP4, FAP,

IFIH1, GCA, FIGN, GRB14, COBLL1, SLC38A11, SCN3A, SCN2A, CSRNP3, GALNT3, TTC21B, SCN9A, SCN7A, B3GALT1, STK39, CERS6, NOSTRIN, SPC25, ABCB11, DHRS9, BBS5, KLHL41, FASTKD1, PPIG, CCDC173, PHOSPHO2, KLHL23, SSB, METTL5, UBR3 y MYO3B (ver Tabla 33). En diferentes modalidades, se puede detectar el favorecimiento de la transcripción del gen SCN1A usando métodos PCR.

[00151] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A es capaz de reducir la frecuencia de convulsiones en un ensayo de convulsiones hipertérmicas (HTS) en el modelo en ratón Scn1a^{tm1kea} de síndrome de Dravet. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente es capaz de reducir la frecuencia de convulsiones a 42.6° C en un ensayo HTS por al menos 1.2 veces, 1.3 veces, 1.4 veces, 1.5 veces, 1.6 veces, 1.7 veces, 1.8 veces, 1.9 veces, 2.0 veces o más o por al menos 20%, 30% 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% o más en comparación con un control (por ejemplo, tratado con PBS o tratamiento con un vector AAV que comprende una secuencia que codifica para eGFP). En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente puede ser capaz de reducir la frecuencia de convulsiones a 42.6° C en un ensayo HTS de tal forma que al menos 60%, 62%, 65%, 70%, 75%, 76%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,

98% o 99% de la corrida de ratones en el ensayo está libre de convulsiones a 42.6° C. Un ensayo HTS de ejemplo se describe en la presente en el Ejemplo 11. Brevemente, las camadas de crías producidas de ratones Scn1a +/- machos cruzados con ratones C57Bl/6J hembra se pueden dosificar con un vector AAV9 que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A como se proporciona en la presente o un vector de control que codifica para eGFP a través de ICV bilateral a P1. Los ratones se pueden dosificar con ~ 1.0E10-5.0E12 gc/ratón. El ensayo HTS se realiza en ratones heterocigotos SCN1A P26-P28 y ratones tipo silvestre SCN1A en un fondo 129Stac X C57BL/6 mezclado al incrementar la temperatura corporal de los ratones (en condiciones controladas y con monitoreo de temperatura corporal) en ~ 0.5° C cada 2 minutos hasta el inicio de la primera convulsión tónica-clónica acompañada de pérdida de postura o hasta que se alcanza una temperatura corporal de 43° C. Un ratón se considera libre de convulsiones si no se detecta ninguna convulsión con pérdida de postura durante todo el transcurso del experimento.

[00152] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A es capaz de incrementar la supervivencia de un ratón que es heterocigoto para SCN1A, por ejemplo, una línea de ratones Scn1a^{tm1kea}. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente es capaz

de incrementar la tasa de supervivencia de ratones heterocigotos SCN1A en P100 por al menos 1.2 veces, 1.3 veces, 1.4 veces, 1.5 veces, 1.6 veces, 1.7 veces, 1.8 veces, 1.9 veces, 2.0 veces o más o por al menos 20%, 30% 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% o más en comparación con un control (por ejemplo, tratado con PBS o tratamiento con un vector AAV que comprende una secuencia que codifica para eGFP). En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente es capaz de incrementar la tasa de supervivencia de ratones heterocigotos a SCN1A a P100 de modo que al menos 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los ratones corridos en el ensayo todavía estén vivos a P100. Un ensayo de supervivencia de ejemplo se describe en la presente en el Ejemplo 12. Brevemente, las camadas de crías producidas a partir de ratones Scn1a +/- machos cruzados con ratones C57Bl/6J hembra pueden dosificarse con vector AAV9 mediante ICV bilateral en P1. Los ratones se pueden dosificar con ~ 1.0E10-5.0E12 gc/ratón. Se determina el número de ratones que han sobrevivido a P100.

[00153] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A tiene un alto por ciento de identidad a una o más proteínas humanas (como se describe adicionalmente a continuación). En ciertas modalidades, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%,

87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico. En ciertas modalidades, estos eTF pueden comprender un DBD derivado de EGR1 o EGR3 humana y un TAD derivado de EGR1, EGR3, CITED2 o CITED4 humano.

[00154] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN que tiene uno o más dominios de dedo de zinc que comprenden una hélice de reconocimiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 115-130. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN que tiene al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce dominios de dedo de zinc, en donde cada dominio de dedo de zinger comprende independientemente una hélice de reconocimiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 115-130. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN que tiene seis

dominios de dedo de zinc, en donde cada dominio de dedo de zinc comprende independientemente una hélice de reconocimiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 115-130. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN que tiene nueve dominios de dedo de zinc, en donde cada dominio de dedo de zinc comprende independientemente una hélice de reconocimiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 115-130. En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden un dominio de unión a ADN que tiene SEQ ID NO: 421, en donde cada X se selecciona independientemente de cualquiera de SEQ ID NO: 115-130, y n es 6 o 9.

[00155] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende RSDNLVR x REDNLHT x RSDELVR x QSGNLTE x TSGHLVR x QNSTLTE (SEQ ID NO: 135), en donde x puede ser un ligador de 1-50 aminoácidos, (ii) una secuencia que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 135, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2

conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 256 y favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00156] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende RSDNLVR x HRTTLTN x REDNLHT x TSHSLTE x QSSSLVR x REDNLHT (SEQ ID NO: 371), en donde x puede ser un ligador de 1-50 aminoácidos, (ii) una secuencia que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 371, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2

conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 264 y favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00157] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende RRDELNV x RSDHLTN x RSDDLVR x RSDNLVR x HRTTLTN x REDNLHT x TSHSLTE x QSSSLVR x REDNLHT (SEQ ID NO: 372), (ii) una secuencia que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 372, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo

N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 37 y favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00158] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende DPGALVR x RSDNLVR x QSGDLRR x THLDLIR x TSGNLVR x RSDNLVR (SEQ ID NO: 376), (ii) una secuencia que tiene al menos 89%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 376, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-

terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 136 y favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00159] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 57-58, 61-62, 67-71, 74-75, 268-282, 295-299, 305-325, o 364-366; (ii) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 22-25, 29-31, 84-85, 88, 90-92, 131-135, 371-372, 376, 391-409, o 423-435; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25

veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00160] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 268-282, 305-312, o 365-366; (ii) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 131-135, 371-372, 376, 391-409, o 423-426; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00161] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 57-58, 61-62, 67-71, 74-75, 295-299,

313-325, o 364; (ii) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 2-25, 29-31, 84-85, 88, 90-92, o 427-435; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00162] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende

cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 305; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 423; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 135 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 256. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00163] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 306; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 424; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 135 y se unen a un sitio

diana que tiene SEQ ID NO: 256. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00164] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 308; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 425; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 135 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 256. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00165] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la

presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 313; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 427; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 135 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 256. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00166] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 316; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 430; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 135 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 256. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo

elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00167] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 317; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 431; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 371 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 264. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede

medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00168] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 315; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 429; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 135 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 256. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o

más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00169] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 319; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 433; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 371 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 264. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene

un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00170] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 318; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 432; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 371 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 264. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben

inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00171] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 314; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 428; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 135 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 256. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas

humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00172] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 440; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 441; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 135 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 256. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o

99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00173] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 325; (ii) una secuencia que comprende SEQ ID NO: 435; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden SEQ ID NO: 371 y se unen a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 264. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%,

87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00174] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de SCN1A comprende un DBD que comprende un complejo de ARNg/Cas, en donde el ARNg comprende una secuencia de direccionamiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 105-111, 113, 195-211, 224-238, o 240-251. La secuencia diana del ARNg se une al extremo 5’ de una secuencia de andamio que tiene la secuencia: 5’-GTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGA-3’ (SEQ ID NO: 102). En modalidades de ejemplo, la proteína Cas es una proteína Cas9 desactivada por nucleasa. En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD conjugados con la proteína Cas, en donde el TAD se selecciona de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal de la proteína Cas. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal, o el

extremo N-terminal y el extremo C-terminal de la proteína Cas. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal, o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal de la proteína Cas. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control.

eTF que favorecen la expresión de Progranulina (GRN)

[00175] En otro aspecto, la solicitud proporciona los eTF que son capaces favorecer la expresión del gen de progranulina (GRN) e incrementar la expresión de la proteína GRN. La progranulina (GRN o PGRN), también conocida como precursor de granulinas, es una glicoproteína secretada rica en cisteína con propiedades similares a factores de crecimiento. GRN se ubica en el cromosoma 17q21.31 (secuencia de referencia de NCBI: NC_000017.11). Las granulinas juegan un papel en la angiogénesis, reparación de heridas, proliferación celular e inflamación. Las mutaciones en el gen de progranulina y/o deficiencia en progranulina secretada se asocian con diferentes enfermedades neurodegenerativas y enfermedades metabólicas, tal como degeneración lobular frontotemporal; degeneración frontotemporal o demencia frontotemporal, una enfermedad neurodegenerativa de inicio temprano asociada con

deficiencia parcial de progranulina; afasia progresiva no fluente; demencia semántica; enfermedad de Parkinson; enfermedad de Alzheimer; y lipofuscinoisis ceroide neuronal con deficiencia total de progranulina. La mutación y/o deficiencia en progranulina también se ha relacionado con aterosclerosis, una enfermedad progresiva caracterizada por inflamación y engrosamiento de las paredes arteriales debido a acumulación de lípidos y proliferación celular. Por lo tanto, un eTF proporcionado en la presente que incrementa la expresión de GRN se puede usar para tratar una variedad de enfermedades o trastornos asociados con mutaciones en GRN.

[00176] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN reconoce un sitio de unión a diana que tiene al menos 9pb, 12pb, 15pb, 18pb, 21pb, 24pb, 27pb, 30pb, 33pb o 36pb de tamaño; más de 9pb, 12pb, 15pb, 18pb, 21pb, 24pb, 27pb o 30pb; o de 9-33pb, 9-30pb, 9-27pb, 9-24pb, 9-21pb, 9-18pb, 9-15pb, 9-12pb, 12-33pb, 12-30pb, 12-27pb, 12-24pb, 12-21pb, 12-18pb, 12-15pb, 15-33pb, 15-30pb, 15-27pb, 15-24pb, 15-21pb, 15-18pb, 18-33pb, 18-30pb, 18-27pb, 18-24pb, 18-21pb, 21-33pb, 21-30pb, 21-27pb, 21-24pb, 24-33pb, 24-30pb, 24-27pb, 27-33pb, 27-30pb o 30pb. En modalidades de ejemplo, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN reconoce un sitio de unión a diana que es 18-27 pb, 18 pb o 27 pb.

[00177] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la

presente que favorece la expresión de GRN reconoce un sitio de unión a diana que se ubica en el cromosoma 17. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN reconoce un sitio de unión a diana que se ubica en el cromosoma 17 dentro de 110 kb, 100 kb, 90 kb, 80 kb, 70 kb, 60 kb, 50 kb, 40 kb, 30 kb, 20 kb, 10 kb, 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb o 1 kb en la dirección 5’ o en la dirección 3’ del TSS de GRN. En modalidades de ejemplo, estos sitios de unión a diana son 18-27 pb, 18 pb o 27 pb.

[00178] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN reconoce un sitio de unión a diana que se ubica en el cromosoma 17 dentro de las posiciones 44,344,963-44,345,178 (con referencia a GRCh38.p12). En modalidades de ejemplo, estos sitios de unión a diana son 18-27 pb, 18 pb o 27 pb.

[00179] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, y (ii) se une a una región genómica que está dentro de al menos 1 kb, 750 pb, 500 pb, 400 pb, 300 pb, 200 pb, 100 pb o 50 pb de una ubicación genómica que tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336. En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana es capaz de producir al menos un incremento de 1.2 veces, 2 veces, 5 veces, 15 veces, 20 veces o 25 veces en la expresión de GRN cuando se une por un eTF

descrito en la presente.

[00180] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN reconoce un sitio de unión a diana que es (i) 18-27 pb, 18 pb o 27 pb, y (ii) se une a una región genómica que se traslapa al menos parcialmente con una ubicación genómica que tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336. En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana es capaz de producir al menos un incremento de 1.2 veces, 2 veces, 5 veces, 15 veces, 20 veces o 25 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00181] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN reconoce un sitio de unión a diana que tiene cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 38, 113, 330-336. En ciertas modalidades, el sitio de unión a diana es capaz de producir al menos un incremento de 1.2 veces, 2 veces, 5 veces, 15 veces, 20 veces o 25 veces en la expresión de SCN1A cuando se une por un eTF descrito en la presente.

[00182] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN da por resultado al menos 1.5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 50 veces, 100 veces o más o 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400%

o 500% o más la de favorecimiento de la expresión de GRN (ARN de GRN y/o proteína) en una célula o *in vivo* en comparación con un control (por ejemplo, ningún eTF o eTF que no reconoce el sitio diana). En diferentes modalidades, se puede detectar el favorecimiento de la expresión de GRN usando métodos PCR, transferencia Western o inmunoensayos.

[00183] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN tiene efectos mínimos fuera de diana, por ejemplo, efectos fuera de diana asociados con unión no específica tal como, por ejemplo, modulación de expresión de un gen fuera de diana o gen diferente de GRN. En una modalidad, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN, favorece específicamente la expresión de GRN en comparación con un control por al menos 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces o 50 veces más que la expresión producida por el eTF para uno o más genes fuera de la diana en comparación con un control. En una modalidad de ejemplo, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN favorece específicamente la transcripción del gen GRN en comparación con un control por al menos 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces o más que la transcripción de los 10, 20, 30, 40 o 50 genes vecinos más cercanos (por ejemplo, los 10, 20, 30, 40 o 50 genes más cercanos ubicados a la secuencia codificadora de GRN en el cromosoma 17) producidos por el eTF

con respecto a un control. En diferentes modalidades, se puede detectar el favorecimiento de la transcripción del gen GRN usando métodos PCR.

[00184] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN tiene un alto por ciento de identidad a una o más proteínas humanas (como se describe adicionalmente a continuación). En ciertas modalidades, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico. En ciertas modalidades, estos eTF pueden comprender un DBD derivado de EGR1 o EGR3 humana y un TAD derivado de EGR1, EGR3, CITED2 o CITED4 humano.

[00185] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene uno o más dominios de dedo de zinc que comprenden una hélice de reconocimiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 141-164. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la

expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce dominios de dedo de zinc, en donde cada dominio de dedo de zinger comprende independientemente una hélice de reconocimiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 141-164. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene seis dominios de dedo de zinc, en donde cada dominio de dedo de zinc comprende independientemente una hélice de reconocimiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 141-164. En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene nueve dominios de dedo de zinc, en donde cada dominio de dedo de zinc comprende independientemente una hélice de reconocimiento que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 141-164. En modalidades de ejemplo, estos eTF comprenden un dominio de unión a ADN que tiene SEQ ID NO: 421, en donde cada X se selecciona independientemente de cualquiera de SEQ ID NO: 141-164, y n es 6 o 9.

[00186] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende RNDTLTE x DPGALVR x TSGELVR x RSDNLVR x TSGELVR x TKNSLTE (SEQ ID NO: 171), (ii) una secuencia que

tiene al menos 89%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 171, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 331 y favorecer la expresión de GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00187] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende RSDNLVR x DPGHLVR x RSDHLTT x RSDELVR x RSDKLVR x TTGNLTV (SEQ ID NO: 412), (ii) una secuencia que tiene al menos 89%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de

identidad de secuencia a SEQ ID NO: 412, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 332 y favorecer la expresión de GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00188] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende RSDHLTT x RSDELVR x RSDKLVR x TTGNLTV x QLAHLRA x TKNSLTE (SEQ ID NO: 413), (ii) una secuencia que tiene al menos 89%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 413, o (ii) un fragmento

funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 333 y favorecer la expresión de GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00189] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende SPADLTR x DSGNLRV x QLAHLRA x QRANLRA x REDNLHT x RSDNLVR (SEQ ID NO: 414), (ii) una secuencia que tiene al menos 89%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 414, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF

comprende además uno o más TAD seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 38 y favorecer la expresión de GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00190] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende TSHSLTE x HKNALQN x ERSHLRE x SKKALTE x QRANLRA x RKDNLKN x QSSNLVR x QSSSLVR x QAGHLAS (SEQ ID NO: 415), (ii) una secuencia que tiene al menos 89%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 415, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD

seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 334 y favorecer la expresión de GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00191] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un dominio de unión a ADN que tiene cualquiera de: (i) una secuencia que comprende QSGDLRR x SPADLTR x DSGNLRV x QLAHLRA x QRANLRA x REDNLHT x RSDNLVR (SEQ ID NO: 416), (ii) una secuencia que tiene al menos 89%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 416, o (ii) un fragmento funcional de (i) o (ii). En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD

seleccionados de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal del DBD. En ciertas modalidades, este eTF es capaz de unirse a un sitio diana que tiene SEQ ID NO: 335 y favorecer la expresión de GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00192] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 10, 16, 59-60, 63-64, 72-73, 76-77, o 337-350; (ii) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 26, 32, 86-89, 93, 165-171, 377-390, o 412-416; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i)

o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

[00193] En ciertas modalidades, un eTF descrito en la presente que favorece la expresión de GRN comprende un DBD que comprende un complejo de ARNg/Cas, en donde el ARNg comprende una secuencia de direccionamiento que comprende SEQ ID NO: 113. La secuencia diana del ARNg se une al extremo 5’ de una secuencia de andamio que tiene la secuencia: 5’-GTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGA-3’ (SEQ ID NO: 102). En modalidades de ejemplo, la proteína Cas es una proteína Cas9 desactivada por nucleasa. En ciertas modalidades, este eTF comprende además uno o más TAD conjugados con la proteína Cas, en donde el TAD se selecciona de VP64, VPR, CITED2 o CITED4. En una modalidad, este eTF comprende un dominio TAD de VPR conjugado con el extremo C-terminal de la proteína Cas. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED2 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal, o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal de la proteína

Cas. En ciertas modalidades, este eTF comprende un TAD de CITED4 conjugado con el extremo N-terminal, el extremo C-terminal, o el extremo N-terminal y el extremo C-terminal de la proteína Cas. En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control.

eTF que son altamente homólogos a proteínas humanas

[00194] En otro aspecto, la solicitud proporciona los eTF que tienen un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas que se pueden diseñar para unirse a un sitio diana genómico y modular la expresión (favorecer o reducir) de cualquier gen de interés, incluyendo, por ejemplo, SCN1A o GRN. Estos eTF tienen poca o ninguna inmunogenicidad cuando se administran a un sujeto o tienen inmunogenicidad reducida en comparación con los eTF que tienen menor por ciento de identidad a secuencias de proteínas humanas.

[00195] En ciertas modalidades, un eTF proporcionado en la presente tiene al menos 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%,87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a una

o más proteínas humanas. Cuando un eTF proporcionado en la presente comprende un DBD y un TAD derivado de la misma proteína, el por ciento de identidad a una proteína humana se puede determinar al calcular el número total de residuos de aminoácidos en el eTF que coinciden con la proteína humana de la cual se derivó (por ejemplo, EGR1 o EGR3), dividido por el número total de residuos de aminoácidos en el eTF. Cuando un eTF proporcionado comprende un DBD de una proteína humana y un TAD derivado de una proteína humana diferente, el por ciento de identidad a humano se puede determinar al calcular por separado el por ciento de identidad a humano de cada dominio y al sumar los dos conjuntamente, por ejemplo, (i) calcular el número total de residuos de aminoácidos en el DBD que coinciden con la proteína humana de la cual se derivó (por ejemplo, EGR1 o EGR3), dividido por el número total de residuos de aminoácidos en el eTF; (ii) calcular el número total de residuos de aminoácidos en el TAD que coinciden con la proteína humana de la cual se derivó (por ejemplo, CITED2 o CITED4), dividido por el número total de residuos de aminoácidos en el eTF; y (iii) sumar el total de (i) y (ii). En esta modalidad, los dominios se dividen como sigue: el primer dominio se extiende desde el extremo N- terminal del eTF hasta el inicio de la secuencia codificadora para el segundo dominio, y el segundo dominio se extiende desde el inicio de la secuencia codificadora para el segundo dominio

hasta el extremo C-terminal del eTF (por ejemplo, para un eTF que tiene la configuración NLS-DBD-ligador-NLS-TAD, el primer dominio sería NLS-DBD-ligador y el segundo dominio sería NLS-TAD). Cuando un eTF proporcionado en la presente comprende un DBD de una proteína humana y dos TAD derivados de una o más proteínas humanas diferentes, el por ciento de identidad a humano se puede determinar al calcular por separado el por ciento de identidad a humano de cada dominio y al sumar los tres conjuntamente, por ejemplo, (i) calcular el número total de residuos de aminoácidos en el DBD que coinciden con la proteína humana de la cual se derivó (por ejemplo, EGR1 o EGR3), dividido por el número total de residuos de aminoácidos en el eTF; (ii) calcular el número total de residuos de aminoácidos en el primer TAD que coinciden con la proteína humana de la cual se derivó (por ejemplo, CITED2 o CITED4), dividido por el número total de residuos de aminoácidos en el eTF; (iii) calcular el número total de residuos de aminoácidos en el segundo TAD que coinciden con la proteína humana de la cual se derivó (por ejemplo, CITED2 o CITED4), dividido por el número total de residuos de aminoácidos en el eTF; y (iv) sumar el total de (i), (ii) y (iii). En esta modalidad, los dominios se dividen de la siguiente manera: el primer dominio se extiende desde el extremo N- terminal del eTF hasta el inicio de la secuencia codificadora para el segundo dominio, el segundo dominio se

extiende desde el inicio de la secuencia codificadora para el segundo dominio hasta el inicio de la secuencia codificadora para el tercer dominio, y el tercer dominio se extiende desde el inicio de la secuencia codificadora para el tercer dominio a través del extremo C-terminal del eTF (por ejemplo, para un eTF que tiene la configuración NLS-TAD1-ligador-NS-DBD-ligador-NLS-TAD2, el primer dominio sería NLS-TAD1-ligador, el segundo dominio sería NLS-DBD-lligador y el tercer dominio sería NLS-TAD2). El por ciento de identidad a una o más proteínas humanas como se describe en esta sección se puede determinar usando el por ciento de salida de identidad obtenido usando la herramienta BLAST de proteínas estándar disponible del NCBI (por ejemplo, la herramienta de alineación de la suite blastp, utilizando el algoritmo blast (proteína - > proteína) con parámetros predeterminados) disponible en la telaraña mundial desde el sitio web de NCBI en blast.ncbi.nlm.nih.gov/.

[00196] En ciertas modalidades, un eTF proporcionado en la presente tiene el beneficio de provocar poca, mínima o ninguna respuesta inmunitaria adversa en un sujeto humano debido a un alto grado de identidad de secuencia a proteínas humanas que se presentan de manera natural. En ciertas modalidades, un eTF proporcionado en la presente produce inmunogenicidad reducida, por ejemplo, al menos una reducción de 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 10, 15, 20, 25,

30, 35, 40, 45 o 50 veces o mayor en inmunogenicidad en comparación con la inmunogenicidad observada con un eTF que comprende un menor por ciento de identidad a una o más proteínas humanas, por ejemplo, un eTF que comprende menos de 50%, 55%, 65% o 70% de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas. En algunos casos, se puede medir la reducción en inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico. Una terapia génica que tiene una baja o mínima inmunogenicidad tiene varias ventajas, incluyendo tolerancia mejorada de paciente, dosificación disminuida necesaria para lograr un efecto terapéutico, efectos terapéuticos prolongados después de una administración, capacidad para administrarse múltiples veces o en múltiples dosis como sea necesario, eficacia terapéutica sostenida durante un período de tiempo más largo por administración, seguridad incrementada y/o eficacia incrementada de una terapia génica.

[00197] En ciertas modalidades, los eTF proporcionados en la presente que tienen un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprenden un DBD y un TAD derivado de una o más proteínas humanas que se presentan de manera natural. En ciertas modalidades, este eTF puede comprender un DBD derivado de cualquier proteína humana que se presenta de manera natural que comprende un DBD. En modalidades de ejemplo, un eTF proporcionado en la

presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprende un DBD derivado de una proteína de dedo de zinc que se presenta de manera natural, tal como, por ejemplo, cualquiera de las proteínas de dedo de zinc listadas en la Tabla 7. En ciertas modalidades, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprende un DBD derivado de una proteína EGR humana, tal como EGR1, EGR2, EGR3 o EGR4. En modalidades de ejemplo, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprende un DBD derivado de un EGR1 o EGR3 humana. En diferentes modalidades, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprende un DBD derivado de una proteína de dedo de zinc humana en donde se han realizado cambios mínimos de aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6, 2-7, 3-4, 3-5, 36 o 3-7 cambios de aminoácidos) en uno o más dominios de dedos de zinc del DBD para alterar la especificidad de unión del DBD para reconocer un sitio de unión a diana de interés. Estas modificaciones de secuencia se realizan preferentemente en las hélices de reconocimiento de los dominios de dedos de zinc del DBD, en tanto que el resto de la proteína o DBD de dedo de zinc humano (incluyendo

el TAD) permanece sin modificar para conservar tanta identidad de secuencia a la proteína humana que se presenta de manera natural como sea posible.

[00198] En ciertas modalidades, los eTF proporcionados en la presente que tienen un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprenden uno o más dominios de modulación transcripcional (por ejemplo, un TAD o TRD) derivados de una proteína humana conjugada a un DBD derivado de una proteína humana. En diferentes modalidades, el dominio de modulación transcripcional se puede derivar de cualquier proteína humana que se presenta de manera natural que tiene un dominio capaz de reclutar uno o más factores de proteína que pueden modular la transcripción (por ejemplo, ARN polimerasa II, una proteína co-activadora o una proteína co-represora) o el nivel de expresión génica de un gen de interés cuando el eTF se une a un sitio diana mediante el DBD. En modalidades de ejemplo, el TAD se deriva de una proteína EGR humana, tal como por ejemplo, EGR1, EGR2, EGR3 o EGR4 humana, o una proteína citada humana, tal como, por ejemplo, una proteína CITED2 o CITED4 humana. En una modalidad de ejemplo, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprende un TAD de una proteína EGR1 o EGR3 humana. En otra modalidad de ejemplo, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de

identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprende un TAD de una proteína CITED2 o CITED4 humana.

[00199] En una modalidad, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas puede comprender un DBD humano (hDBD) y un TAD humano (hTAD) (por ejemplo, hTAD-hDBD o hDBD-hTAD), en donde el hDBD y hTAD se pueden derivar de la misma proteína humana o de diferentes proteínas humanas. En otra modalidad, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas puede comprender un hDBD y dos hTAD, en donde el hDBD y los hTAD se derivan de la misma proteína humana, el hDBD se deriva de una primera proteína humana y ambos hTAD se derivan de una segunda proteína humana, el hDBD y un hTAD se derivan de una primera proteína humana y el segundo hTAD se deriva de una segunda proteína humana, o el hDBD se deriva de una primera proteína humana, un hTAD se deriva de una segunda proteína humana, y el segundo hTAD se deriva de una tercera proteína humana (por ejemplo, hTAD1-hDBD-hTAD1 o hTAD1-hDBD-hTAD2).

[00200] En modalidades de ejemplo, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprende cualquiera de las siguientes configuraciones: (i) un hDBD y un hTAD ambos derivados de EGR1 humana; (ii) un hDBD y un hTAD ambos

derivados de EGR3 humana; (iii) un hDBD derivado de EGR1 humana y un hTAD derivado de CITED2 (por ejemplo, hEGR1 DBD-hCITED2 TAD o hCITED2 TAD-hEGR1 DBD); (iv) un hDBD derivado de EGR1 humana y un hTAD derivado de CITED4 humano (por ejemplo, hEGR1 DBD-hCITED4 TAD o hCITED4 TAD-hEGR1 DBD); (v) un hDBD derivado de EGR3 humana y un hTAD derivado de CITED2 (por ejemplo, hEGR3 DBD-hCITED2 TAD o hCITED2 TAD-hEGR3 DBD); (vi) un hDBD derivado de EGR3 humana y un hTAD derivado de CITED4 humano (por ejemplo, hEGR3 DBD-hCITED4 TAD o hCITED4 TAD-hEGR3 DBD); (vii) un hDBD derivado de EGR1 humana y dos hTAD derivados de CITED2 (por ejemplo, hCITED2 TAD-hEGR1 DBD-hCITED2 TAD); (viii) un hDBD derivado de EGR1 humana y dos hTAD derivados de CITED4 humano (por ejemplo, hCITED4 TAD-hEGR1 DBD-hCITED4 TAD); (ix) un hDBD derivado de EGR3 humana y dos hTAD derivados de CITED2 humano (por ejemplo, hCITED2 TAD-hEGR3 DBD-hCITED2 TAD); (x) un hDBD derivado de EGR3 humana y dos hTAD derivados de CITED4 humano (por ejemplo, hCITED4 TAD-hEGR3 DBD-hCITED4 TAD); (xi) un hDBD derivado de EGR1 humana, un primer hTAD derivado de CITED2 humano, un segundo hTAD derivado de CITED4 humano (por ejemplo, hCITED2 TAD-hEGR1 DBD-hCITED4 TAD o hCITED4 TAD-hEGR1 DBD-hCITED2 TAD); o (xii) un hDBD derivado de EGR3 humana, un primer hTAD derivado de CITED2 humano, un segundo hTAD derivado de CITED4 humano (por ejemplo, hCITED2 TAD-hEGR3 DBD-hCITED4 TAD o hCITED4 TAD-hEGR3 DBD-hCITED2 TAD).

[00201] En otra modalidad, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas puede comprender un hDBD y un hTRD (por ejemplo, hTRD-hDBD o hDBD-hTRD), en donde el hDBD y hTRD se pueden derivar de la misma proteína o de diferentes proteínas. En otra modalidad, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas puede comprender un hDBD y dos hTDR, en donde el hDBD y los hTDR se derivan de la misma proteína humana, el hDBD se deriva de una primera proteína humana y ambos hTDR se derivan de una segunda proteína humana, el hDBD y un hTDR se derivan de una primera proteína humana y el segundo hTRD se deriva de una segunda proteína humana, o el hDBD se deriva de una primera proteína humana, un hTDR se deriva de una segunda proteína humana, y el segundo hTDR se deriva de una tercera proteína humana (por ejemplo, hTRD1-hDBD-hTRD1 o hTRD1-hDBD-hTRD2).

[00202] En ciertas modalidades, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas comprende cualquiera de: (i) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 6-10, 13-16, 57-64, 67-77, 295-299, 313-325, 345-350, 364, 436; (ii) una secuencia que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 385-390, 406-409, 427-435 o 437; (iii) una secuencia que comprende al menos 80%, 85%, 86%,

87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un fragmento funcional o variante de cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos eTF son capaces de favorecer la expresión de SCN1A o GRN por al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces o más en comparación con un control, o por al menos 20%, 30%, 40%, 50% , 50% , 60%, 70%, 75%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200%, 250%, 300%, 400% o 500% o más en comparación con un control. En modalidades de ejemplo, estos eTF tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia total a una o más proteínas humanas. En ciertas modalidades, estos eTF exhiben inmunogenicidad reducida en comparación con un eTF que tiene un por cierto de identidad de secuencia total menor a una o más proteínas humanas. En diferentes modalidades, se puede medir una reducción de inmunogenicidad usando un ensayo elispot, un inmunoensayo o un método in silico.

[00203] En ciertas modalidades, un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas puede comprender además uno o más dominios o secuencias de aminoácidos además de los dominios DBD y TAD, tal como una señal de localización

nuclear o un ligador, etc. Además, un polinucleótido que codifica para un eTF proporcionado en la presente que tiene un alto por ciento de identidad de secuencia a una o más proteínas humanas puede comprender además una o más secuencias de ácido nucleico además de la secuencia codificadora para el eTF tal como un promotor, intensificador, cola de poliA, etc. En estas modalidades, una o más de las secuencias de aminoácidos y/o secuencias de ácido nucleico adicionales son preferentemente secuencias humanas, derivadas de secuencias humanas, o tienen al menos 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a una proteína humana.

Polinucleótidos

[00204] En otro aspecto, la solicitud proporciona polinucleótidos que codifican para cualquiera de los eTF descritos en la presente.

[00205] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 6-10, 13-16, 57-64, 67-77, 268-282, 305-325, 337-350, 364, 295-299, o 365-366 o una variante o un fragmento funcional de las mismas; (ii) un ácido nucleico que codifica para un fragmento funcional de un eTF que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 6-10, 13-16, 57-64,

67-77, 268-282, 305-325, 337-350, 364, 295-299, o 365-366; o (iii) un ácido nucleico que codifica para un eTF que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un eTF que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 6-10, 13-16, 57-64, 67-77, 112, 268-282, 305-325, 337-350, 364, 295-299, 365-366 o una variante o un fragmento funcional de las mismas, en donde el eTF es capaz de favorecer la expresión de SCN1A o GRN.

[00206] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un DBD que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 131-135, 165-171, 377-409, o 423-435 o una variante o fragmento funcional de las mismas; (ii) un ácido nucleico que codifica un fragmento funcional de un DBD que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 131-135, 165-171, 377-409, 423-435; o (iii) un ácido nucleico que codifica un DBD que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un DBD que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 377-409, o 432-435 o una variante o fragmento funcional de las mismas, en donde el eTF es capaz de unirse a un sitio diana unido por cualquiera de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 377-

409, 423-435.

[00207] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A endógeno, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 57-58, 61-62, 67-71, 74-75, 268-282, 295-299, 305-325, o 364-366; (ii) un ácido nucleico que codifica para un fragmento funcional de un eTF que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 57-58, 61-62, 67-71, 74-75, 268-282, 295-299, 305-325, o 364-366; o (iii) un ácido nucleico que codifica para un eTF que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un eTF que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 57-58, 61-62, 67-71, 74-75, 268-282, 295-299, 305-325 o 364-366, en donde el eTF es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00208] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un DBD que se une a un sitio diana genómico capaz de favorecer la expresión de SCN1A endógeno cuando se une a un eTF descrito en la presente, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un DBD que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 22-25, 29-31, 84-85, 88, 90-92, 131-135, 371-372, 376, 391-409 o 423-435; (ii) un

ácido nucleico que codifica para un fragmento funcional de un DBD que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 22-25, 29-31, 84-85, 88, 90-92, 131-135, 371-372, 376, 391-409, o 423-435; o (iii) un ácido nucleico que codifica para un eTF que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un DBD que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 22-25, 29-31, 84-85, 88, 90-92, 131-135, 371-372, 376, 391-409 o 423-435, en donde el DBD es capaz de unirse a un sitio diana unido por cualquiera de SEQ ID NO: 22-25, 29-31, 84-85, 88, 90-92, 131-135, 371-372, 376, 391-409 o 423-435.

[00209] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un DBD que se une a un sitio diana genómico capaz de favorecer la expresión de SCN1A endógeno cuando se une a un eTF descrito en la presente, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un DBD que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 135, 371, 372 o 376; (ii) un ácido nucleico que codifica para un fragmento funcional de un DBD que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 135, 371, 372 o 376; o (iii) un ácido nucleico que codifica para un eTF que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un DBD que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 135, 371, 372 o 376, en donde el DBD es capaz de

unirse a un sitio diana unido por cualquiera de SEQ ID NO: 22-25, 29-31, 84-85, 88, 90-92, 131-135, 371-372, 376, o 391-409.

[00210] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 110, 16, 59-60, 63, 64, 72-73, 76, 77 o 337-350; (ii) un ácido nucleico que codifica para un fragmento funcional de un eTF que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 0, 16, 59-60, 63, 64, 72-73, 76, 77 o 337-350; o (iii) un ácido nucleico que codifica para un eTF que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un eTF que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 10, 16, 59-60, 63, 64, 72-73, 76, 77, o 337-350, en donde el eTF es capaz de favorecer la expresión de GRN.

[00211] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un DBD que se une a un sitio diana genómico capaz de favorecer la expresión de SCN1A endógeno cuando se une a un eTF descrito en la presente, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que codifica para un DBD que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 26, 32, 86-89, 93,

165-171 o 377-390; (ii) un ácido nucleico que codifica para un fragmento funcional de un DBD que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 26, 32, 86-89, 93, 165-171 o 377-390; o (iii) un ácido nucleico que codifica para un eTF que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a un DBD que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 26, 32, 86-89, 93, 165-171 o 377-390, en donde el DBD es capaz de unirse a un sitio diana unido por cualquiera de SEQ ID NO: 26, 32, 86-89, 93, 165-171, o 377-390.

[00212] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 353-363 o 454; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 442-453; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii), en donde el polinucleótido codifica para un eTF que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00213] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un

polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 353; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 442; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 305, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00214] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 354; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 443; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i),

(ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 306, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00215] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 355; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 444; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 308, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00216] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 356; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 445; (iii) un ácido

nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 313, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00217] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 357; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 451; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 314, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00218] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un

polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 358; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 448; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 315, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00219] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 359; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 446; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i),

(ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 316, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00220] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 360; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 447; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 317, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00221] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 361; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 450; (iii) un ácido

nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 318, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00222] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 362; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 449; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 319, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00223] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un

polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 454; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 452; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i), (ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 440, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A.

[00224] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un polinucleótido que codifica para un eTF capaz de regular la expresión de SCN1A endógena, en donde el polinucleótido comprende cualquiera de lo siguiente: (i) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 363; (ii) una secuencia de ácido nucleico que tiene SEQ ID NO: 453; (iii) un ácido nucleico que tiene un fragmento funcional de cualquiera de las secuencias de (i) o (ii); o (iv) un ácido nucleico que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia a cualquiera de las secuencias de (i),

(ii) o (iii). En modalidades de ejemplo, estos polinucleótidos codifican para un eTF que tiene SEQ ID NO: 325, o un fragmento funcional o variante de la misma que es capaz de favorecer la expresión de SCN1A

Casetes de Expresión

[00225] En otro aspecto, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden un polinucleótido que codifica para un eTF como se proporciona en la presente y uno o más elementos reguladores.

[00226] En ciertas modalidades, un polinucleótido que codifica para un eTF descrito en la presente es parte de un casete de expresión que comprende uno o más elementos reguladores además de la secuencia que codifica para el eTF. En modalidades de ejemplo, un polinucleótido que codifica para un eTF descrito en la presente es parte de un casete de expresión que comprende un promotor colocado en la dirección 5’ de la secuencia que codifica para el eTF para que sea capaz de activar la expresión del eTF en una célula.

[00227] En ciertas modalidades, un casete de expresión descrito en la presente comprende un polinucleótido que codifica para un eTF y un promotor constitutivo colocado en la dirección 5’ de la secuencia que codifica para el eTF para que sea capaz de activar la expresión del eTF en una célula. Los ejemplos de promotores constitutivos incluyen, un promotor GAD2, un promotor de sinapsina humana, promotor CBA,

un promotor CMV, un promotor minCMV, una caja TATA, un promotor super núcleo o un promotor EF1α, o una combinación de los mismos.

[00228] En ciertas modalidades, un casete de expresión descrito en la presente comprende un polinucleótido que codifica para un eTF y un promotor corto capaz de activar la expresión del eTF en una célula. En ciertas modalidades, un promotor corto adecuado para uso de acuerdo con las moléculas de ácido nucleico descritas en la presente comprende menos de 500 pb, 450 pb, 400 pb, 350 pb, 300 pb, 250 pb, 225 pb, 200 pb, 175 pb, 150 pb, 145 pb, 140 pb, 135 pb, 130 pb, 125 pb, 120 pb, 115 pb, 110 pb, 105 pb, 100 pb, 95 pb, 90 pb, 85 pb, 80 pb o 75 pb, o de aproximadamente 80-300 pb, 80-275 pb, 80-250 pb, 80-200 pb, 80-150 pb, 80-125 pb, 80-120 pb, 80-115 pb, 80-110 pb, 80-105 pb, 80-100 pb, 85-300 pb, 85-275 pb, 85-250 pb, 85-200 pb, 85-150 pb, 85-125 pb, 85-120 pb, 85-115 pb, 85-110 pb, 85-105 pb, 85-100 pb, 90-300 pb, 90-275 pb, 90-250 pb, 90-200 pb, 90-150 pb, 90-125 pb, 90-120 pb, 90-115 pb, 90-110 pb, 90-105 pb, 90-100 pb, 95-300 pb, 95-275 pb, 95-250 pb, 95-200 pb, 95-150 pb, 95-125 pb, 95-120 pb, 95-115 pb, 95-110 pb, 95-105 pb, 95-100 pb, 100-300 pb, 100-275 pb, 100-250 pb, 100-200 pb, 100-150 pb, 100-125 pb, 100-120 pb, 100-115 pb, 100-110 pb o 100-105 pb. En modalidades de ejemplo, un promotor corto adecuado para uso de acuerdo con los casetes de expresión descritos en la presente comprende

de aproximadamente 100-120 pb, aproximadamente 117 pb o aproximadamente 100 pb.

[00229] En ciertas modalidades, un casete de expresión descrito en la presente comprende un promotor corto que comprende o que consiste en cualquiera de (i) SEQ ID NO: 178; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de (i) o (ii) unida de manera operativa a un polinucleótido que codifica para cualquiera de los eTF descritos en la presente. Otros ejemplos de secuencia promotora corta se pueden encontrar en la Publicación PCT No. WO 2018/213786.

[00230] En ciertas modalidades, un casete de expresión descrito en la presente comprende un polinucleótido que codifica para un eTF y un promotor selectivo tipo celular colocado en la dirección 5’ de la secuencia que codifica para el eTF para que sea capaz de activar la expresión del eTF de manera selectiva en una célula de interés. En ciertas modalidades, un promotor selectivo tipo celular puede ser selectivo para (por ejemplo, activar de manera selectiva la expresión en) cualquier tipo de célula de interés, tal como, por ejemplo, una célula cardíaca, célula hepática, célula muscular, célula ósea, neurona o subpoblaciones de las

mismas. En una modalidad de ejemplo, un casete de expresión descrito en la presente comprende un polinucleótido que codifica para un eTF y un elemento regulador selectivo de PV (por ejemplo, un promotor, intensificador y/o promotor e intensificador) colocado en la dirección 5’ de la secuencia que codifica para el eTF para que sea capaz de activar la expresión del eTF de manera selectiva en una célula de PV. Un elemento regulador selectivo de PV se refiere a un elemento regulador que modula específicamente la expresión génica en una neurona de PV. En ciertas modalidades, los elementos reguladores selectivos de PV mejoran la expresión en una neurona de PV con respecto a uno o más diferentes tipos de células de CNS. En ciertas modalidades, un elemento regulador selectivo de PV suprime los procesos de transcripción y/o traducción en tipos de células fuera de diana.

[00231] En ciertas modalidades, un elemento regulador selectivo de PV proporcionado en la presente da por resultado la expresión génica selectiva en una célula de PV en comparación con los tipos de células fuera de diana. En algunos casos, los tipos de células fuera de diana incluyen, pero no se limitan a, neuronas excitadoras tipos de células de CNS sin PV y tipos de células CNS no neuronales. En ciertas modalidades, los elementos reguladores selectivos de PV dan como resultado la expresión génica selectiva en

neuronas de PV en al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco o más tipos de células de CNS no de PV. En algunos casos, una célula de CNS no de PV es una neurona excitadora, una neurona dopaminérgica, un astrocito, una microglia, una neurona motora, una célula vascular o una neurona no GABAérgica (por ejemplo, una célula que no expresa uno o más de GAD2, GAD1, NKX2.1, DLX1, DLX5, SST y VIP), una neurona no de PV (por ejemplo, una neurona GABAérgica que no expresa parvalbúmina) u otras células del CNS (por ejemplo, tipos de células del CNS que nunca han expresado ninguno de PV, GAD2, GAD1, NKX2.1, DLX1, DLX5, SST y VIP). En algunos casos, un elemento regulador selectivo de PV proporcionado en la presente da como resultado un aumento de selectividad en la expresión génica en neuronas de PV en comparación con células GABAérgicas no de PV. En algunos casos, los tipos celulares se distinguen por tener un marcador, morfología, fenotipo, genotipo, función celular y/o cualquier otro medio diferente para clasificar tipos de células.

[00232] La selectividad de expresión activada por un elemento regulador selectivo de PV se puede medir de varias maneras. En una modalidad, la selectividad de la expresión génica en una célula de PV con respecto a células no de PV se puede medir al comparar la cantidad de células de PV que expresan un nivel detectable de una transcripción de un gen que está unido de manera operativa a un elemento regulador selectivo

de PV con la cantidad total de células que expresan el gen (por ejemplo, la relación de células de PV versus células totales (células de PV + no de PV) que expresan el gen). Por ejemplo, la selectividad para neuronas PV se puede determinar usando un ensayo de co-localización basado en inmunohistoquímica usando un gen que codifica para una proteína fluorescente (por ejemplo, eGFP) unida de manera operativa a un elemento regulador selectivo de PV para medir la expresión génica y un anticuerpo que identifica células PV (por ejemplo, un anticuerpo anti-PV que interactúa específicamente con neuronas PV) unidas a una segunda marca de fluorescencia (por ejemplo, proteína fluorescente roja). La selectividad de expresión en células de PV se puede calcular al dividir el número de células que expresan tanto PV como eGFP (por ejemplo, células de PV) por el número total de células que expresan eGFP (por ejemplo, células de PV y células no de PV), y al multiplicar por 100 para convertir a un porcentaje. Mientras más grande sea el porcentaje de células de PV que expresan el transgén, más selectivo será el elemento regulador para las células de PV. En ciertas modalidades, un elemento regulador selectivo de PV proporcionado en la presente puede ser altamente selectivo para la expresión en células de PV. Por ejemplo, un elemento regulador selectivo de PV proporcionado en la presente puede exhibir aproximadamente 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%,

85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de aproximadamente 99% de selectividad para neuronas de PV (por ejemplo, neuronas de PV/células totales x 100).

[00233] En algunos casos, un elemento regulador selectivo de PV proporcionado en la presente es corto. En algunos casos, el tamaño del elemento regulador selectivo de PV es compatible con la capacidad de clonación de un vector, por ejemplo, un vector viral o rAAV, de modo que el tamaño combinado de un transgén y uno o más elementos reguladores selectivos de PV no exceda la capacidad de clonación de un vector. En algunos casos, un elemento regulador selectivo de PV tiene una longitud de hasta aproximadamente 2050 pb, 2000 pb, 1900 pb, 1800 pb, 1700 pb, 1600 pb, 1500 pb, 1400 pb, 1300 pb, 1200 pb, 1100 pb, 1000 pb, 900 pb, 800 pb, 700 pb, 600 pb, 500 pb, 400 pb, 300 pb, 200 pb o 100 pb. En algunos casos, un elemento regulador selectivo de PV es de entre aproximadamente 500-600 pb, 500-700 pb, 500-800 pb, 500-900 pb, 500-1000 pb o 500-1500 pb.

[00234] En ciertas modalidades, un elemento regulador selectivo de PV proporcionado en la presente comprende o consiste de cualquiera de (i) SEQ ID NO: 183-185 y 417; (ii) una variante, fragmento funcional o una combinación de las mismas; o (iii) una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de

secuencia a cualquiera de (i) o (ii). En algunos casos, un elemento regulador comprende cualquiera de SEQ ID NO: 183-185 y 417. Otros ejemplos de elementos reguladores selectivos de PV se pueden encontrar en la Publicación PCT No. WO 2018/187363.

[00235] En modalidades de ejemplo, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF de SCN1A bajo el control de un elemento regulador selectivo de PV. En ciertas modalidades, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF de SCN1A que comprende un DBD que tiene cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 135, 371-372, o 376 bajo el control de un elemento regulador selectivo de PV que tiene cualquiera de EQ ID NO: 183-185 o 417. En ciertas modalidades, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF de SCN1A que comprende cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 57-58, 61-62, 67-71, 74-75, 268-282, 295-299, 305-325 o 364-366 bajo el control de un elemento regulador selectivo de PV que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 183-185 o 417. En ciertas modalidades, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden una secuencia de ácido nucleico que comprende cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 353-363

bajo el control de un elemento regulador selectivo de PV que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 183-185 o 417. En ciertas modalidades, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF de SCN1A que comprende un DBD que tiene cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 135, 371, 372, o 376 bajo el control de un elemento regulador selectivo de PV que tiene cualquiera de EQ ID NO: 183 o 185. En ciertas modalidades, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF de SCN1A que comprende cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 57-58, 61-62, 67-71, 74-75, 268-282, 295-299, 305-325 o 364-366 bajo el control de un elemento regulador selectivo de PV que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 183 o 185. En ciertas modalidades, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden una secuencia de ácido nucleico que comprende cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 353-363 bajo el control de un elemento regulador selectivo de PV que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 183 o 185.

[00236] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona casetes de expresión que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica para un eTF de GRN bajo el control de un elemento regulador selectivo tipo celular. En ciertas modalidades, el elemento regulador selectivo tipo celular

puede activar la expresión del eTF que regula favorece la expresión de GRN a un nivel más alto en células seleccionadas del grupo que consiste de: células de sistema nervioso central, células de corteza frontal, células gliales, células microgliales, células Purkinje, células piramidales (por ejemplo, células Betz), neuronas motoras, neuronas corticales cerebrales y células estriadas en comparación con otros tipos de células (por ejemplo, células no de CNS).

[00237] En ciertas modalidades, un casete de expresión proporcionado en la presente puede comprender uno más elementos reguladores adicionales en una adición a un promotor, tal como, por ejemplo, secuencias asociadas con iniciación o terminación de transcripción, secuencias intensificadoras y señales de procesamiento de ARN eficientes. Los ejemplos de elementos reguladores incluyen, por ejemplo, un intrón, un intensificador, UTR, elemento de estabilidad, secuencia WPRE, una secuencia de consenso Kozak, elemento de respuesta postraduccional, un sitio de unión de microARN o una secuencia de poliadenilación (poliA), o una combinación de los mismos. Los elementos reguladores pueden funcionar para modular la expresión génica en la fase transcripcional, en la fase post-transcripcional o en la fase de traducción de la expresión génica. A nivel de ARN, la regulación puede presenntarse a nivel de traducción (por ejemplo, elementos de estabilidad que estabilizan el ARNm

para la traducción), escisión de ARN, empalme de ARN y/o terminación transcripcional. En varias modalidades, los elementos reguladores pueden reclutar factores de transcripción a una región codificadora que aumentan la selectividad de expresión génica en un tipo celular de interés, aumentan la velocidad a la que se producen transcripciones de ARN, aumentan la estabilidad del ARN producido y/o aumentan la velocidad de síntesis de proteínas a partir de transcripciones de ARN.

[00238] En ciertas modalidades, los casetes de expresión descritos en la presente comprenden además una secuencia poliA. Las secuencias poliA adecuadas incluyen, por ejemplo, una poliA artificial que es de aproximadamente 75 pb de longitud (PA75) (ver, por ejemplo, WO 2018/126116), la hormona de crecimiento bovina poliA, señal de poliA temprana SV40, señal de poliA tardía SV40, poliA de beta globina de conejo, poliA de timidina cinasa de HSV, poliA de gen de protamina, poliA de adenovirus 5 EIb, poliA de hormona de crecimiento o poliA de PBGD. En modalidades de ejemplo, una secuencia poliA adecuada para uso en los casetes de expresión proporcionados en la presente es una poliA de hGH (SEQ ID NO: 327) o una poliA sintética (SEQ ID NO: 326). Habitualmente, la secuencia poliA se coloca en la dirección 3’ del polinucleótido que codifica para el eTF en los casetes de expresión descritos en la presente.

[00239] En ciertas modalidades, los casetes de expresión proporcionados en la presente comprenden además una o más secuencias de ácido nucleico que codifican para una o más señales de localización nuclear (NLS). Se puede usar cualquier péptido NLS que facilita la importación de la proteína a la cual se une en el núcleo celular. Ejemplos de NLS incluyen, por ejemplo, la NLS de antígeno T grande de SV40, la NLS de nucleoplasmina, la NLS de EGL-13, la NLS de c-Myc y la NLS de proteína TUS. Ver, por ejemplo, C. Dingwall et al., J. Cell Biol. 107: 841-9 (1988); J.P. Makkerh et al., Curr Biol. 6: 1025-7 (1996); and M. Ray et al., Bioconjug. Chem. 26: 1004-7 (2015). Las NLS se pueden ubicar en cualquier parte de la secuencia de proteína eTF, pero en modalidades preferidas se conjuga con el extremo N-terminal del eTF o un dominio del eTF. En modalidades de ejemplo, los casetes de ácido nucleico proporcionados en la presente codifican para un eTF con una NLS fusionada al extremo N-terminal del eTF. En otras modalidades, los casetes de ácido nucleico proporcionados en la presente codifican para un eTF con una primera NLS fusionada al extremo N-terminal del eTF y una segunda NLS ubicada entre el DBD y el dominio TAD del eTF.

Vectores de expresión

[00240] En ciertas modalidades, los casetes de expresión descritos en la presente se pueden incorporar en un vector de

expresión. Se pueden usar vectores de expresión para administrar un casete de expresión a una célula diana mediante transfección o transducción. Un vector puede ser un vector integrante o no integrante, que se refiere a la capacidad del vector para integrar el casete de expresión o transgén en el genoma de la célula hospedadora. Ejemplos de vectores de expresión incluyen, pero no se limitan a, (a) vectores no virales tal como vectores de ácido nucleico que incluyen oligonucleótidos lineales y plásmidos circulares; cromosomas artificiales tal como cromosomas artificiales humanos (HAC), cromosomas artificiales de levadura (YAC) y cromosomas artificiales bacterianos (BAC o PAC); vectores episomales; transposones (por ejemplo, PiggyBac); y (b) vectores virales tal como vectores retrovirales, vectores lentivirales, vectores adenovirales y vectores virales adenoasociados.

[00241] Los vectores de expresión pueden ser oligonucleótidos lineales o plásmidos circulares y se pueden administrar a una célula mediante diferentes métodos de transfección, incluyendo métodos físicos y químicos. Los métodos físicos en general se refieren a métodos de administración que emplean una fuerza física para contrarrestar la barrera de membrana celular al facilitar la administración intracelular de material genético. Ejemplos de métodos físicos incluyen el uso de una aguja, ADN balístico, electroporación,

sonoporación, fotoporación, magnetoinfección e hidroporación. Los métodos químicos en general se refieren a métodos en los cuales los portadores químicos administran una molécula de ácido nucleico a una célula y pueden incluir partículas inorgánicas, vectores basados en lípidos, vectores basados en polímeros y vectores basados en péptidos.

[00242] En algunas modalidades, se administra un vector de expresión a una célula diana usando un lípido catiónico (por ejemplo, liposoma catiónico). Se han investigado varios tipos de lípidos para administración génica, tal como, por ejemplo, una nanoemulsión lipídica (por ejemplo, que es una dispersión de un líquido inmiscible en otro estabilizado por agente emulsionador) o una nanopartícula lipídica sólida.

[00243] En algunas modalidades, se administra un vector de expresión a una célula diana usando un vehículo de administración basado en péptido. Los vehículos de administración basados en péptidos pueden tener ventajas de proteger el material genético que se administrará, dirigirse a receptores celulares específicos, romper las membranas endosomales y administrar el material genético en un núcleo. En algunas modalidades, se administra un vector de expresión a una célula diana usando un vehículo de administración basado en polímero. Los vehículos de administración basados en polímeros pueden comprender proteínas naturales, péptidos y/o polisacáridos o polímeros sintéticos. En una modalidad,

un vehículo de administración basado en polímero comprende polietilenimina (PEI). PEI puede condensar ADN en partículas positivamente cargadas que se unen a residuos de superficie celular aniónica y se ponen en la célula mediante endocitosis. En otras modalidades, un vehículo de administración basado en polímero puede comprender poli-L-lisina (PLL), poli-(ácido DL-láctico) (PLA), poli-(DL-lactido-co-glicósido) (PLGA), poliornitina, poliarginina, histonas, protaminas, dendrímeros, quitosanos, derivados amino sintéticos de dextrano y/o polímeros acrílicos catiónicos. En ciertas modalidades, los vehículos de administración basados en polímero pueden comprender una mezcla de polímeros, tal como, por ejemplo, PEG y PLL.

[00244] En ciertas modalidades, un vector de expresión puede ser un vector viral adecuado para terapia génica. Las características preferidas de vectores de terapia génica viral o vectores de administración génica pueden incluir la capacidad de propagarse y purificarse de forma reproducible y estable hasta altos títulos; mediar la administración dirigida (por ejemplo, administrar el transgén específicamente al tejido u órgano de interés sin diseminación generalizada del vector en otra parte); y mediar la administración génica y la expresión transgénica sin inducir efectos secundarios perjudiciales.

[00245] Varios tipos de virus, por ejemplo, el parvovirus no

patógeno al que se hace referencia como virus adenoasociado, se han diseñado para fines de terapia génica mediante el aprovechamiento de la vía de infección viral, pero evitando la posterior expresión de genes virales que pueden conducir a la replicación y toxicidad. Estos vectores virales se pueden obtener eliminando todas, o algunas, de las regiones codificadoras del genoma viral, pero dejando intactas aquellas secuencias (por ejemplo, secuencias de repetición terminales) que pueden ser necesarias para funciones tal como empaquetar el genoma del vector en la cápside del virus o la integración de ácido nucleico del vector (por ejemplo, ADN) en la cromatina hospedadora.

[00246] En varias modalidades, los vectores virales adecuados incluyen retrovirus (por ejemplo, virus tipo A, tipo B, tipo C y tipo D), adenovirus, parvovirus (por ejemplo, virus adenoasociados o AAV), coronavirus, virus de ARN de cadena negativa tal como ortomixovirus (por ejemplo, virus de influenza), rabdovirus (por ejemplo, virus de la rabia y estomatitis vesicular), paramixovirus (por ejemplo, sarampión y Sendai), virus de ARN de cadena positiva tal como picornavirus y alfavirus, y virus de ADN de cadena doble que incluyen adenovirus, herpesvirus (por ejemplo, virus del herpes simple tipos 1 y 2, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus) y virus de viruela (por ejemplo, vaccinia, viruela aviar y viruela canaria). Ejemplos de retrovirus

incluyen virus de leucosis-sarcoma aviar, virus linfotrópico T humano tipo 1 (HTLV-1), virus de leucemia bovina (BLV), lentivirus y spumavirus. Otros virus incluyen, por ejemplo, virus Norwalk, togavirus, flavivirus, reovirus, papovavirus, hepadnavirus y virus de hepatitis. Los vectores virales se pueden clasificar en dos grupos de acuerdo con su capacidad para integrarse en el genoma hospedador - integrante y no integrante. Los oncoretrovirus y lentivirus se pueden integrar en la cromatina celular hospedadora, en tanto que los adenovirus, virus adenoasociados y virus de herpes persisten predominantemente en el núcleo celular como episomas extracromosómicos.

[00247] En ciertas modalidades, un vector viral adecuado es un vector retroviral. Los retrovirus se refieren a virus de la familia Retroviridae. Los ejemplos de retrovirus incluyen oncoretrovirus, tal como virus de leucemia murina (MLV), y lentivirus, tal como virus de inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1). Los genomas retrovirales son ARN de una sola hebra (ss) y comprenden diferentes genes que se pueden proporcionar en cis o trans. Por ejemplo, el genoma retroviral puede contener secuencias de acción cis tal como dos repeticiones terminales largas (LTR), con elementos para la expresión génica, transcripción inversa e integración en los cromosomas hospedadores. Otros componentes incluyen la señal de empaquetado (psi or ψ), para el empaquetado de ARN específico

en viriones recién formados y el tracto de polipurina (PPT), el sitio de inicio de la síntesis de ADN de cadena positiva durante la transcripción inversa. Además, el genoma retroviral puede comprender los genes gag, pol y env. El gen gag codifica para las proteínas estructurales, el gen pol codifica para las enzimas que acompañan al ARNcs y realizan la transcripción inversa del ARN viral al ADN, y el gen env codifica para la envoltura viral. En general, el gag, pol y env se proporcionan en trans para replicación viral y empaquetado.

[00248] En ciertas modalidades, un vector retroviral proporcionado en la presente puede ser un vector lentiviral. Se reconocen al menos cinco serogrupos o serotipos de lentivirus. Los virus de los diferentes serotipos pueden infectar de manera diferencial ciertos tipos de células y/o hospedadores. Los lentivirus, por ejemplo, incluyen retrovirus primates y retrovirus no primates. Los retrovirus primates incluyen VIH y virus de inmunodeficiencia de simios (SIV). Los retrovirus no primates incluyen virus de inmunodeficiencia felina (FIV), virus de inmunodeficiencia bovina (BIV), virus de artritis-encefalitis caprina (CAEV), virus de anemia infecciosa equina (EIAV) y visnavirus. Los lentivirus o lentivectores pueden ser capaces de transducir células quiescentes. Como con los vectores oncoretrovirales, el diseño de lentivectores se puede basar en la separación de

secuencias que actúa en cis y en trans.

[00249] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona vectores de expresión que se han diseñado para administración por un vector retroviral terapéutico optimizado. El vector retroviral puede ser un lentivirus que comprende una LTR izquierda (5’); secuencias que ayudan al empaquetado y/o importación nuclear del virus; un promotor; opcionalmente uno o más elementos reguladores adicionales (tal como, por ejemplo, una secuencia intensificadora o poliA); opcionalmente un elemento de respuesta inversa lentiviral (RRE); una construcción que comprende un elemento regulador selectivo PV unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF; opcionalmente un aislante; y una LTR retroviral derecha (3’).

[00250] En modalidades de ejemplo, un vector viral proporcionado en la presente es un virus adenoasociado (AAV). El AAV es un virus animal pequeño, de replicación defectuosa, sin envoltura, que infecta a humanos y a algunas otras especies de primates. No se sabe que AAV provoque enfermedad humana e induzca una respuesta inmunitaria leve. Los vectores de AAV también pueden infectar tanto células que se dividen como células inactivas sin integrarse en el genoma de la célula hospedadora.

[00251] El genoma AAV consiste en un ADN lineal de una sola hebra de ~ 4.7 kb de longitud. El genoma consiste en dos

marcos de lectura abiertos (ORF) flanqueados por una secuencia de repetición terminal invertida (ITR) de aproximadamente 145 pb de longitud. La ITR consiste en una secuencia de nucleótidos en el extremo 5′ (ITR 5′) y una secuencia de nucleótidos ubicada en el extremo 3′(ITR 3′) que contienen secuencias palindrómicas. Las ITR funcionan en cis al plegarse para formar estructuras de horquilla en forma de T mediante el emparejamiento de bases complementario que funcionan como cebadores durante el inicio de la replicación de ADN para la síntesis de la segunda cadena. Los dos marcos de lectura abiertos codifican para los genes rep y cap que intervienen en la replicación y empaquetado del virión. En una modalidad de ejemplo, un vector AAV proporcionado en la presente no contiene los genes rep o cap. Estos genes se pueden proporcionar en trans para producir viriones como se describe adicionalmente a continuación.

[00252] En ciertas modalidades, un vector AAV puede incluir un ácido nucleico de relleno. En algunas modalidades, el ácido nucleico de relleno puede codificar para una proteína fluorescente verde o gen de resistencia a antibióticos tal como kanamicina o ampicilina. En determinadas modalidades, el ácido nucleico de relleno se puede ubicar fuera de las secuencias ITR (por ejemplo, en comparación con la secuencia de transgén eTF y secuencias reguladoras, que se ubican entre las secuencias ITR 5′ y 3′).

[00253] Existen diferentes serotipos de AAV, incluyendo AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12 y AAV13. Estos serotipos difieren en su tropismo, o en los tipos de células que infectan. Los AAV pueden comprender el genoma y cápside de múltiples serotipos (por ejemplo, pseudotipos). Por ejemplo, un AAV puede comprender el genoma de serotipo 2 (por ejemplo, ITR) empaquetado en la cápside del serotipo 5 o serotipo 9. Los pseudotipos pueden mejorar la eficiencia de la transducción, así como alterar el tropismo.

[00254] En algunos casos, se prefiere un serotipo de AAV que pueda cruzar la barrera hematoencefálica o infectar células del CNS. En algunos casos, se utiliza AAV9 o una variante del mismo para administrar un casete de expresión de esta descripción, que comprende elementos reguladores selectivos de PV unidos de manera operativa a un transgén que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A.

[00255] En modalidades de ejemplo, la solicitud proporciona vectores de expresión que se han diseñado para administración por un AAV. El AAV puede ser cualquier serotipo, por ejemplo, AAV1, AAV2, AAV3, AAV3b, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV-DJ o un AAV quimérico, híbrido o variante. El AAV también puede ser un AAV auto-complementario (scAAV). En ciertas modalidades, un vector de expresión diseñado para administración por un AAV comprende una ITR 5’y

una ITR 3’. En ciertas modalidades, un vector de expresión diseñado para administración por un AAV comprende una ITR 5’, un promotor, un transgén que codifica para un eTF y una ITR 3’. En ciertas modalidades, un vector de expresión diseñado para administración por un AAV comprende un ITR 5’, un intensificador, un promotor, un transgén que codifica para un eTF, una secuencia de poliA y una ITR 3’. Los vectores de expresión de AAV de ejemplo se ilustran en la **Figura 36** y **Figura 37**.

Células Hospedadoras

[00256] En otro aspecto, la invención se refiere a una célula hospedadora que comprende un casete de expresión o vector de expresión que codifica para un eTF de la invención. Las células hospedadoras pueden ser una célula bacteriana, una célula de levadura, una célula de insecto o una célula de mamífero. En una modalidad de ejemplo, una célula hospedadora se refiere a cualquier línea celular que es susceptible a infección por un virus de interés y tratable para cultivar *in vitro*.

[00257] En ciertas modalidades, una célula hospedadora proporcionada en la presente se puede usar para propósitos de terapia génica *ex vivo*. En estas modalidades, las células se transfectan con una molécula de ácido nucleico o vector de expresión que comprende una secuencia que codifica para un eTF de la invención y posteriormente se trasplantan al

paciente o sujeto. Las células trasplantadas pueden tener un origen autólogo, alogénico o heterólogo. Para uso clínico, el aislamiento celular en general se llevará a cabo bajo condiciones de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP). Habitualmente. antes del trasplante, se comprueban la calidad celular y ausencia de contaminantes microbianos u otros contaminantes y se puede llevar a cabo un preacondicionamiento, tal como con radiación y/o un tratamiento inmunosupresor. Adicionalmente, las células hospedadoras se pueden trasplantar conjuntamente con factores de crecimiento para estimular la proliferación y/o diferenciación celular.

[00258] En ciertas modalidades, una célula hospedadora se puede usar para terapia génica *ex vivo*. Preferentemente, estas células son células eucariotas tal como células de mamífero, estas incluyen, pero no se limitan a, humanos, primates no humanos tal como simios; chimpancés; monos y orangutanes, animales domésticos, incluyendo perros y gatos, así como ganado tal como caballos, ganado vacuno, cerdos, ovejas y cabras, u otras especies de mamíferos incluyendo, pero no limitado a, ratones, ratas, conejillos de indias, conejos, hámsters y similares. Un experto en la técnica elegirá las células más apropiadas de acuerdo con el paciente o sujeto a trasplantar.

[00259] En ciertas modalidades, una célula hospedadora

proporcionada en la presente puede ser una célula con propiedades de autorrenovación y pluripotencia, tal como células madre o células madre pluripotentes inducidas. Las células madre son preferentemente células madre mesenquimales. Las células madre mesenquimales (MSC) son capaces de diferenciarse en al menos uno de un osteoblasto, un condrocito, un adipocito o un miocito y se pueden aislar de cualquier tipo de tejido. En general, las MSC se aislarán de la médula ósea, tejido adiposo, cordón umbilical o sangre periférica. Los métodos para obtener lo mismo son bien conocidos por un experto en la técnica. Las células madre pluripotentes inducidas (también conocidas como células iPS o iPSC) son un tipo de célula madre pluripotente que se puede generar directamente a partir de células adultas. Yamanaka et al. indujeron células iPS al transferir los genes Oct3/4, Sox2, Klf4 y c-Myc en fibroblastos de ratón y humanos, y forzando a las células a expresar los genes (WO 2007/069666). Thomson et al. produjeron posteriormente células iPS humanas usando Nanog y Lin28 en lugar de Klf4 y c-Myc (WO 2008/118820).

[00260] En una modalidad de ejemplo, una célula hospedadora proporcionada en la presente es una célula de empaquetado. Estas células pueden ser células adherentes o en suspensión. La célula empaquetadora y vector auxiliar o virus o construcciones de ADN proporcionan conjuntamente en trans

todas las funciones ausentes que son necesarias para la replicación y empaquetado completos del vector viral.

[00261] Preferentemente, estas células de envasado son células eucariotas tal como células de mamífero, incluyendo células de simio, humano, perro y roedor. Los ejemplos de células humanas son células PER.C6 (WO01/38362), MRC-5 (ATCC CCL-171), WI-38 (ATCC CCL-75), células HEK-293 (ATCC CRL-1573), células HeLa (ATCC CCL2) y células pulmonares fetales de rhesus (ATCC CL-160). Ejemplos de células de primates no humanos son células Vero (ATCC CCL81), células COS-1 (ATCC CRL-1650) o células COS-7 (ATCC CRL-1651). Ejemplos de células de perro son células MDCK (ATCC CCL-34). Ejemplos de células de roedor son células de hámster, tal como células BHK21-F, HKCC o células CHO.

[00262] Como alternativa a las fuentes mamíferas, las líneas celulares para uso en la invención se pueden derivar de fuentes aviares tal como pollo, pato, ganso, codorniz o faisán. Los ejemplos de líneas celulares de aves incluyen células madre embrionarias de aves (WO01/85938 y WO03/076601), células de retina de pato inmortalizadas (WO2005/042728) y células derivadas de células madre embrionarias de aves, incluyendo células de pollo (WO2006/108846) o células de pato, tal como la línea celular EB66 (WO2008/129058 y WO2008/142124).

[00263] En otra modalidad, esta célula hospedadora son

células insectiles, tal como células SF9 (ATCC CRL-1711), células Sf21 (IPLB-Sf21), células MG1 (BTI-TN-MG1) o células High Five™ (BTI-TN-5B1-4).

[00264] En ciertas modalidades, las células hospedadoras proporcionadas en la presente que comprenden el vector/genoma de AAV recombinante de la invención (por ejemplo, que comprende una secuencia que codifica un eTF) pueden comprender además una o más construcciones de ácido nucleico adicionales, tales como, por ejemplo (i) una construcción de ácido nucleico (por ejemplo, un plásmido auxiliar de AAV) que codifica genes de rep y casquete, pero no lleva secuencias de ITR; y/o (ii) una construcción de ácido nucleico (por ejemplo, un plásmido) que proporciona las funciones adenovirales necesarias para la replicación de AAV. En una modalidad de ejemplo, una célula hospedadora proporcionada en la presente comprende: i) un vector de expresión que comprende una secuencia que codifica para un eTF de la invención (es decir, el genoma de AAV recombinante); ii) una construcción de ácido nucleico que codifica para genes rep y cap de AAV que no porta las secuencias de ITR; y iii) una construcción de ácido nucleico que comprende genes auxiliares adenovirales (como se describe adicionalmente más adelante).

[00265] En determinadas modalidades, los genes adenovirales auxiliares y rep, cap se pueden combinar en un plásmido individual (Blouin V et al. J Gene Med. 2004; 6(suppl): S223-

S228; Grimm D. et al. Hum. Gene Ther. 2003; 7: 839-850). Por lo tanto, en otra modalidad de ejemplo, una célula hospedadora proporcionada en la presente comprende: i) un vector de expresión que comprende una secuencia que codifica para un eTF de la invención (es decir, el genoma de AAV recombinante); y ii) un plásmido que codifica para genes rep y cap de AAV que no porta las secuencias de ITR y que comprende además genes auxiliares adenovirales.

[00266] En otra modalidad, una célula hospedadora proporcionada en la presente comprende: a) un vector de expresión que comprende una secuencia que codifica para un eTF de la invención (es decir, el genoma de AAV recombinante); b) un plásmido que codifica para genes rep y cap de AAV que no porta las secuencias de ITR; y c) un plásmido que comprende genes auxiliares adenovirales E2a, E4 y ARN VA; en donde la cotransfección se realiza en células, preferentemente células de mamífero, que expresan y transcompletan constitutivamente el gen E1 adenoviral, como células HEK-293 (ATCC CRL-1573).

[00267] En ciertas modalidades, una célula hospedadora adecuada para la producción a gran escala de vectores AAV es una célula insectil que se puede infectar con una combinación de baculovirus recombinantes (Urabe et ál. Hum. Gene Ther. 2002; 13: 1935-1943). Por ejemplo, las células SF9 se pueden coinfectar con tres vectores de baculovirus que expresan

respectivamente AAV rep, AAV cap y el vector AAV a empaquetar. Los vectores de baculovirus recombinantes proporcionarán las funciones génicas auxiliares virales necesarias para la replicación y/o empaquetado del virus.

[00268] Se puede encontrar una guía adicional para la construcción y producción de viriones para terapia génica de acuerdo con la invención en: Viral Vectors for Gene Therapy, Methods and Protocols. Serie: Methods in Molecular Biology, Vol. 737. Merten y Al-Rubeai (Eds.); 2011 Humana Press (Springer); Gene Therapy. M. Giacca. 2010 Springer-Verlag; Heilbronn R. y Weger S. Viral Vectors for Gene Transfer: Current Status of Gene Therapeutics. In: Drug Delivery, Handbook of Experimental Pharmacology 197; M. Schafer-Korting (Ed.). 2010 Springer-Verlag; pp. 143-170; Adeno-Associated Virus: Methods and Protocols. R. O. Snyder y P. Moulllier (Eds). 2011 Humana Press (Springer); Bunning H. et al. Recent developments in adeno-associated virus technology. J. Gene Med. 2008; 10:717-733; y Adenovirus: Methods and Protocols. M. Chillon y A. Bosch (Eds.); Third. Edition. 2014 Humana Press (Springer).

Viriones y métodos para producir Viriones

[00269] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona partículas virales que comprenden un vector viral que comprende una secuencia que codifica para un eTF de la invención. Los términos “partícula viral” y “virión” se usan

en la presente indistintamente y se refieren a una partícula de virus infecciosa y habitualmente defectuosa de replicación que comprende el genoma viral (por ejemplo, el vector de expresión viral) envasado dentro de una cápside y, como sea el caso, por ejemplo, para retrovirus, una envoltura lipídica que circunda la cápside. Una “cápside” se refiere a la estructura en la cual se envasa el genoma viral. Una cápside consiste en varias subunidades estructurales oligoméricas elaboradas de proteínas. Por ejemplo, AAV tiene una cápside icosaédrica formada por la interacción de tres proteínas cápside: VP1, VP2 y VP3. En una modalidad, un virión proporcionado en la presente es un virión AAV recombinante o virión rAAV obtenido al envasar un vector AAV que comprende un elemento regulador selectivo de PV unido de manera operativa a una secuencia que codifica para eTF como se describe en la presente en una cubierta de proteína.

[00270] En ciertas modalidades, un virus AAV recombinante proporcionado en la presente se puede preparar al encapsular un genoma AAV derivado de un serotipo AAV particular en una partícula viral formada por proteínas Cap naturales que corresponden a un AAV del mismo serotipo particular. En otras modalidades, una partícula viral AAV proporcionada en la presente comprende un vector viral que comprende ITR de un serotipo AAV dado envasado en proteínas de un serotipo diferente. Ver, por ejemplo, Bunning H et al. J Gene Med

2008; 10: 717-733. Por ejemplo, un vector viral que tiene las ITR de un serotipo AAV dado se puede empaquetar en: a) una partícula viral constituida por proteínas cápside derivadas de un serotipo AAV igual o diferente (por ejemplo, ITR AAV2 y proteínas cápside AAV9; ITR AAV2 y proteínas cápside AAV8; etc.); b) una partícula viral mosaica constituida por una mezcla de proteínas cápside de serotipos AAV diferentes o mutantes (por ejemplo, ITR AAV2 con proteínas cápside AAV1 y AAV9); c) una partícula viral quimérica constituida por proteínas cápside que se han truncado mediante intercambio de dominio entre diferentes serotipos AAV o variantes (por ejemplo, ITR AAV2 con proteínas cápside AAV8 con dominios AAV9); o d) una partícula viral dirigida modificada para mostrar dominios de unión selectivos, lo que permite una interacción rigurosa con receptores específicos de células diana (por ejemplo, ITR AAV5 con proteínas cápside AAV9 truncadas genéticamente mediante inserción de un ligando peptídico; o proteínas cápside AAV9 no modificadas genéticamente al acoplar un ligando peptídico a la superficie).

[00271] El experto en la técnica apreciará que un virus AAV proporcionado en la presente puede comprender proteínas cápside de cualquier serotipo AAV. En una modalidad, la partícula viral comprende proteínas cápside de un serotipo AAV seleccionado del grupo que consiste de un AAV1, un AAV2,

un AAV5, un AAV8 y un AAV9, que son más adecuados para la administración al CNS (M. Hocquemiller et al., Hum Gene Ther 27(7): 478-496 (2016)). En una modalidad particular, la partícula viral comprende un casete de expresión de la invención en donde las secuencias 5'ITR y 3'ITR del casete de expresión son de un serotipo AAV2 y las proteínas cápside son de un serotipo AAV9.

[00272] Se conocen numerosos métodos en la técnica para la producción de viriones rAAV, que incluyen transfección, producción de líneas celulares estables y sistemas de producción de virus híbridos infecciosos que incluyen híbridos de adenovirus AV, híbridos de herpesvirus AV (Conway, J E et ál., (1997) J. Virology 71(11):8780-8789) e híbridos de baculovirus AV. Todos los cultivos de producción de rAAV para la producción de partículas de virus rAAV requieren; 1) células hospedadoras adecuadas, que incluyen, por ejemplo, líneas celulares derivadas de seres humanos tal como células HeLa, A549 o 293, o líneas celulares derivadas de insectos tales como SF-9, en el caso de sistemas de producción de baculovirus; 2) función de virus auxiliar adecuada, proporcionada por adenovirus mutante o tipo silvestre (tal como adenovirus sensible a la temperatura), virus de herpes, baculovirus o una construcción de plásmido que proporciona funciones auxiliares; 3) genes rep y cap de AAV y productos génicos; 4) un transgén (por ejemplo, un

promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica parar un eTF tal como se describe en la presente) flanqueado por secuencias de AAITR; y 5) componentes multimedia adecuados para la producción de rAAV.

[00273] En diferentes modalidades, las células hospedadoras descritas en la presente comprenden los siguientes tres componentes: (1) un gen rep y un gen cap, (2) genes que proporcionan funciones auxiliares y (3) un transgén (por ejemplo, un promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF descrito en la presente flanqueado por las ITR). El gen rep de AAV, gen cap de AAV y genes que proporcionan funciones auxiliares se pueden introducir en la célula al incorporar estos genes en un vector tal como, por ejemplo, un plásmido e al introducir este vector en la célula hospedadora. Los genes de función rep, cap y auxiliar se pueden incorporar en el mismo plásmido o en diferentes plásmidos. En una modalidad preferida, los genes rep y cap de AAV se incorporan en un plásmido y los genes que proporcionan funciones auxiliares se incorporan en otro plásmido. Los varios plásmidos para la creación de una célula hospedadora para la producción de viriones (por ejemplo, que comprenden genes rep y cap de AAV, funciones auxiliares o un transgén) se pueden introducir en la célula mediante al usar cualquier método adecuado bien conocido en la técnica. Los ejemplos de métodos de transfección

incluyen, pero no se limitan a, co-precipitación con fosfato de calcio, DEAE-dextrano, polibreno, electroporación, microinyección, fusión mediada por liposomas, lipofección, infección por retrovirus y transfección biológica. En ciertas modalidades, los plásmidos que proporcionan los genes rep y cap, las funciones auxiliares y el transgén (por ejemplo, un promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF descrito en la presente flanqueado por las ITR) se pueden introducir en la célula simultáneamente. En otra modalidad, los plásmidos que proporcionan los genes rep y cap y las funciones auxiliares se pueden introducir en la célula antes o después de la introducción del plásmido que comprende el transgén. En una modalidad de ejemplo, las células se transfectan simultáneamente con tres plásmidos (por ejemplo, un método de triple transfección): (1) un plásmido que comprende el transgén (por ejemplo, un promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF descrito en la presente flanqueado por las ITR), (2) un plásmido que comprende los genes rep y cap de AAV y (3) un plásmido que comprende los genes que proporcionan las funciones auxiliares. Los ejemplos de células hospedadoras pueden ser células 293, A549 o HeLa.

[00274] En otras modalidades, uno o más de (1) los genes rep y cap de AAV, (2) genes que proporcionan funciones auxiliares

y (3) el transgén, pueden ser portados por la célula de empaquetado, ya sea episómicamente y/o integrados en el genoma de la célula de empaquetado. En una modalidad, las células hospedadoras pueden ser células de empaquetado en las que los genes rep y cap de AAV y las funciones auxiliares se mantienen establemente en la célula hospedadora y la célula hospedadora se transfecta transitoriamente con un plásmido que contiene un transgén (por ejemplo, un promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF descrito en la presente flanqueado por las ITR). En otra modalidad, las células hospedadoras son células de empaquetado en las que los genes rep y cap de AAV se mantienen establemente en la célula hospedadora y la célula hospedadora se transfecta transitoriamente con un plásmido que contiene un transgén (por ejemplo, un promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF descrito en la presente flanqueado por las ITR) y un plásmido que contiene las funciones auxiliares. En otra modalidad, las células hospedadoras pueden ser células de empaquetado en las que las funciones auxiliares se mantienen establemente en la célula hospedadora y la célula hospedadora se transfecta transitoriamente con un plásmido que contiene un transgén (por ejemplo, un promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF descrito en la presente flanqueado por las ITR) y un plásmido que contiene los genes

rep y cap. En otra modalidad, las células hospedadoras pueden ser líneas celulares productoras que se transfectan establemente con los genes rep y cap, funciones auxiliares y la secuencia de transgén (por ejemplo, un promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF descrito en la presente flanqueado por las ITR). Los ejemplos de células productoras y de empaquetado pueden derivar de células 293, A549 o HeLa.

[00275] En otra modalidad, la línea de células productoras es una línea de células insectiles (habitalmente células Sf9) que se infecta con vectores de expresión de baculovirus que proporcionan proteínas Rep y Cap. Este sistema no requiere genes auxiliares de adenovirus (Ayuso E, et al., Curr. Gene Ther. 2010, 10:423-436).

[00276] El término “proteína cap”, como se usa en la presente, se refiere a un polipéptido que tiene al menos una actividad funcional de una proteína Cap de AAV nativa (por ejemplo, VP1, VP2, VP3). Los ejemplos de actividades funcionales de proteínas cap incluyen la capacidad de inducir la formación de una cápside, facilitar la acumulación de ADN monocatenario, facilitar el empaquetado de ADN de AAV en cápsides (es decir, encapsidación), unirse a receptores celulares y facilitar la entrada del virión en células hospedadoras. En principio, se puede usar cualquier proteína Cap en el contexto de la presente invención.

[00277] Se ha reportado que las proteínas cap tienen efectos en el tropismo del hospedador, la especificidad celular, tisular u orgánica, el uso del receptor, la eficiencia de infección e inmunogenicidad de virus AAV. Por consiguiente, un cap de AAV para uso en un rAAV se puede seleccionar teniendo en cuenta, por ejemplo, la especie del sujeto (por ejemplo, humano o no humano), el estado inmunológico del sujeto, la idoneidad del sujeto para el tratamiento a largo o corto plazo, o una aplicación terapéutica particular (por ejemplo, tratamiento de una enfermedad o trastorno particular, o administración a células, tejidos u órganos particulares). En ciertas modalidades, la proteína cap se deriva del AAV del grupo que consiste de serotipos AAV1, AAV2, AAV5, AAV8 y AAV9. En una modalidad de ejemplo, la proteína cap se deriva de AAV9.

[00278] En algunas modalidades, una Cap de AAV para uso en el método de la invención se puede generar por mutagénesis (es decir, por inserciones, eliminaciones o sustituciones) de una de las caps de AAV mencionadas anteriormente o su ácido nucleico codificador. En algunas modalidades, la cap de AAV es al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% o más similar a una o más de las caps de AAV mencionadas anteriormente.

[00279] En algunas modalidades, la cap de AAV es quimérica, que comprende dominios de dos, tres, cuatro o más de las caps

de AAV mencionadas anteriormente. En algunas modalidades, la cap de AAV es un mosaico de monómeros VP1, VP2 y VP3 que se originan de dos o tres AAV diferentes o un AAV recombinante. En algunas modalidades, una composición de rAAV comprende más de una de las caps mencionadas anteriormente.

[00280] En algunas modalidades, una cap de AAV para uso en un virión rAAV se modifica para contener una secuencia heteróloga u otra modificación. Por ejemplo, una secuencia de péptidos o proteínas que confiere direccionamiento selectivo o evasión inmunitaria se puede modificar en una proteína cap. De manera alternativa o adicional, la cap se puede modificar químicamente de modo que la superficie del rAAV esté polietilenglicolada (es decir, pegilada), que puede facilitar la evasión inmunitaria. La proteína cap también se puede mutagenizar (por ejemplo, para eliminar su unión natural al receptor o para enmascarar un epítopo inmunogénico).

[00281] El término “proteína rep”, como se usa en la presente, se refiere a un polipéptido que tiene al menos una actividad funcional de una proteína rep de AAV nativa (por ejemplo, rep 40, 52, 68, 78). Los ejemplos de actividades funcionales de una proteína rep incluyen cualquier actividad asociada con la función fisiológica de la proteína, incluyendo facilitar la replicación del ADN a través del reconocimiento, unión y corte del origen AAV de replicación del ADN, así como la actividad de ADN-helicasa. Las funciones

adicionales incluyen la modulación de la transcripción de promotores de AAV (u otros heterólogos) y la integración específica del sitio del ADN de AAV en un cromosoma hospedador. En una modalidad particular, los genes rep de AAV pueden ser de los serotipos AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 o AAVrh10; más preferentemente de un serotipo de AAV seleccionado del grupo que consiste de AAV1, AAV2, AAV5, AAV8 y AAV9.

[00282] En algunas modalidades, una proteína rep de AAV para uso en el método de la invención se puede generar por mutagénesis (es decir, por inserciones, eliminaciones o sustituciones) de una de las rep de AAV mencionadas anteriormente o su ácido nucleico codificador. En algunas modalidades, la rep de AAV es al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% o más similar a una o más de las rep de AAV mencionadas anteriormente.

[00283] Las expresiones “funciones auxiliares” o “genes auxiliares”, como se usan en la presente, se refieren a proteínas virales de las cuales el AAV depende para la replicación. Las funciones auxiliares incluyen aquellas proteínas necesarias para la replicación de AAV que incluyen, sin limitación, aquellas proteínas implicadas en la activación de la transcripción génica de AAV, empalme de ARNm de AAV específico de etapa, replicación de ADN de AAV, síntesis de productos de expresión de cap y montaje de

cápside de AAV. Las funciones accesorias basadas en virus se pueden derivar de cualquiera de los virus auxiliares conocidos, tal como adenovirus, herpesvirus (distinto del virus de herpes simple tipo 1) y virus de vaccinia. Las funciones auxiliares incluyen, sin limitación, adenovirus E1, E2a, VA y E4 o herpesvirus UL5, ULB, UL52 y UL29, y polimerasa de herpesvirus. En una modalidad preferida, las proteínas de las cuales el AAV depende para la replicación se derivan de adenovirus.

[00284] En algunas modalidades, una proteína viral de la cual el AAV depende para la replicación para uso en el método de la invención se puede generar por mutagénesis (es decir, por inserciones, eliminaciones o sustituciones) de una de las proteínas virales mencionadas anteriormente o su ácido nucleico codificador. En algunas modalidades, la proteína viral es al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% o más similar a una o más de las proteínas virales mencionadas anteriormente.

[00285] Los métodos para evaluar las funciones de las proteínas cap, proteínas rep y proteínas virales de las cuales el AAV depende para la replicación son bien conocidos en la técnica.

[00286] Las células hospedadoras para expresar un transgén de interés (por ejemplo, un promotor unido de manera operativa a una secuencia que codifica para un eTF) se pueden cultivar en

condiciones adecuadas para el montaje de los virus AAV. En ciertas modalidades, las células hospedadoras se cultivan durante un período de tiempo adecuado para promover el montaje de los virus AAV y la liberación de los virus en el medio. En general, las células se pueden cultivar durante aproximadamente 24 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 7 días, aproximadamente 8 días, aproximadamente 9 días o hasta aproximadamente 10 días. Después de aproximadamente 10 días (o antes, dependiendo de las condiciones de cultivo y la célula hospedadora particular usada), el nivel de producción en general disminuye significativamente. En general, el tiempo de cultivo se mide del punto de producción viral. Por ejemplo, en el caso de AAV, la producción viral en general comienza al suministrar la función del virus auxiliar en una célula hospedadora adecuada como se describe en la presente. En general, las células se cosechan aproximadamente 48 a aproximadamente 100, preferentemente aproximadamente 48 a aproximadamente 96, preferentemente aproximadamente 72 a aproximadamente 96, preferentemente aproximadamente 68 a aproximadamente 72 horas después de la infección por el virus auxiliar (o después de que comienza la producción viral).

[00287] Los cultivos de producción de rAAV se pueden hacer

crecer en una variedad de condiciones (en un amplio intervalo de temperatura, durante diferentes períodos de tiempo y similares) adecuadas para la célula hospedadora particular que se utiliza. Los cultivos de producción de rAAV incluyen cultivos dependientes de la unión que se pueden cultivar en recipientes dependientes de la unión adecuados tal como, por ejemplo, botellas de rodillo, filtros de fibra hueca, microportadores y biorreactores de lecho empaquetado o lecho fluidizado. Los cultivos de producción del vector rAAV también pueden incluir células hospedadoras adaptadas a la suspensión tal como células HeLa, 293 y SF-9 que se pueden cultivar en una variedad de maneras que incluyen, por ejemplo, matraces giratorios, biorreactores de tanque agitado y sistemas desechables tal como el sistema de bolsa Wave.

[00288] Se pueden usar medios adecuados conocidos en la técnica para la producción de viriones de rAAV. Estos medios incluyen, sin limitación, medios producidos por Hyclone Laboratories y JRH que incluyen medio Eagle modificado (MEM), medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), cada uno de los cuales se incorpora en la presente por referencia en su totalidad. En ciertas modalidades, los medios de cultivo de producción de rAAV se pueden complementar con proteínas recombinantes de suero o derivadas de suero a un nivel de 0.5%-20% (v/v o p/v). De manera alternativa, los vectores de rAAV se pueden producir en condiciones libres de suero que

también se pueden referir como medios sin productos derivados de animales.

[00289] Después de cultivar las células hospedadoras para permitir la producción de viriones de AAV, los viriones resultantes se pueden recolectar y purificar. En ciertas modalidades, los virus AAV se pueden obtener de (1) las células hospedadoras del cultivo de producción mediante lisis de las células hospedadoras y/o (2) el medio de cultivo de estas células después de un período de tiempo posterior a la transfección, preferentemente 72 horas. Los viriones de rAAV se pueden recolectar del medio agotado del cultivo de producción, siempre que las células se cultiven bajo condiciones que provoquen la liberación de los viriones de rAAV en el medio a partir de células intactas (ver, por ejemplo, la patente de Estados Unidos No. 6,566,118). Los métodos adecuados de lisis celular también se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, múltiples ciclos de congelación/descongelación, tratamiento con ultrasonido, microfluidización y tratamiento con productos químicos, tal como detergentes y/o proteasas.

[00290] Después de la recolección, se pueden purificar los viriones de rAAV. El término “purificado” como se usa en la presente incluye una preparación de viriones de rAAV desprovistos de al menos algunos de los otros componentes que también pueden estar presentes donde los viriones de rAAV se

presentan de manera natural o donde se preparan inicialmente. De esta manera, por ejemplo, los viriones de rAAV purificados se pueden preparar usando una técnica de aislamiento para enriquecerlos de una mezcla fuente, tal como un lisado de cultivo o sobrenadante de cultivo de producción. El enriquecimiento se puede medir en una variedad de maneras, tal como, por ejemplo, por la proporción de partículas resistentes a DNasa (DRP) o copias genómicas (gc) presentes en una solución, o por infectividad, o se puede medir con relación a una segunda sustancia potencialmente interferente presente en la mezcla fuente, tal como contaminantes, incluyendo contaminantes de cultivo de producción o contaminantes durante el proceso, incluyendo virus auxiliar, componentes de medios y similares.

[00291] En ciertas modalidades, la recolección de cultivo de producción de rAAV se puede clarificar para eliminar los desechos de células hospedadoras. En algunas modalidades, la recolección de cultivo de producción se puede clarificar usando una variedad de técnicas estándar, tal como centrifugación o filtración a través de un filtro de 0.2 µm o mayor tamaño de poro (por ejemplo, un filtro de acetato de celulosa o una serie de filtros de profundidad).

[00292] En ciertas modalidades, la recolección de cultivo de producción de rAAV se trata adicionalmente con Benzonasa™ para digerir cualquier ADN de alto peso molecular presente en

el cultivo de producción. En algunas modalidades, la digestión de Benzonasa™ se realiza en condiciones estándar, por ejemplo, una concentración final de 1-2.5 unidades/ml de Benzonasa™ a una temperatura que varía de ambiente a 37ºC durante un período de 30 minutos a varias horas.

[00293] En determinadas modalidades, los viriones de rAAV se pueden aislar o purificar usando una o más de los siguientes pasos de purificación: centrifugación de equilibrio; filtración de intercambio aniónico de flujo continuo; filtración de flujo tangencial (TFF) para concentrar las partículas de rAAV; captura de rAAV mediante cromatografía de apatita; inactivación térmica del virus auxiliar; captura de rAAV mediante cromatografía de interacción hidrófoba; intercambio de amortiguador mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEG); nanofiltración; y captura de rAAV mediante cromatografía de intercambio aniónico, cromatografía de intercambio catiónico o cromatografía de afinidad. Estos pasos se pueden usar solos, en diferentes combinaciones o en órdenes diferentes. Los métodos para purificar partículas de rAAV se encuentran, por ejemplo, en Xiao et al., (1998) Journal of Virology 72:2224-2232; patente de Estados Unidos Nos. 6,989,264 y 8,137,948; y WO 2010/148143.

[00294] En ciertas modalidades, los viriones de AAV purificados se pueden dializar contra PBS, filtrar y almacenar a -80ºC. Los títulos de genomas virales se pueden

determinar por PCR cuantitativa usando ADN de plásmido linealizado como curva estándar (ver, por ejemplo, Bloqueo M, et al., Hum. Gene Ther. 2010; 21:1273-1285).

Composiciones Farmacéuticas

[00295] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona composiciones que comprenden una secuencia que codifica para un eTF y un portador farmacéuticamente aceptable. En otras modalidades, la solicitud proporciona viriones que comprenden una secuencia que codifica para un eTF y un portador farmacéuticamente aceptable. En modalidades de ejemplo, estas composiciones son adecuadas para aplicaciones de terapia génica. Las composiciones farmacéuticas son preferentemente estériles y estables bajo condiciones de fabricación y almacenamiento. Las soluciones estériles se pueden lograr, por ejemplo, por filtración a través de membranas de filtración estériles.

[00296] Los portadores y excipientes aceptables en las composiciones farmacéuticas son preferentemente no tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas. Los portadores y excipientes aceptables pueden incluir amortiguadores tal como fosfato, citrato, HEPES y TAE, antioxidantes tal como ácido ascórbico y metionina, conservadores tal como cloruro de hexametonio, cloruro de octadecildimetilbencil-amonio, resorcinol y cloruro de benzalconio, proteínas tal como albúmina de suero humano,

gelatina, dextrano e inmunoglobulinas, polímeros hidrófilos tal como polivinilpirrolidona, aminoácidos tal como glicina, glutamina, histidina y lisina, y carbohidratos tal como glucosa, manosa, sacarosa y sorbitol. Composiciones farmacéuticas de la descripción se pueden administrar de manera parenteral en forma de una formulación inyectable. Las composiciones farmacéuticas para inyección se pueden formular usando una solución estéril o cualquier líquido farmacéuticamente aceptable como un vehículo. Vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, agua estéril y solución salina fisiológica.

[00297] Las composiciones farmacéuticas de la descripción se pueden preparar en microcápsulas, tal como hidroxilmetilcelulosa o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de polimetilmetacrilato. Las composiciones farmacéuticas de la descripción también se pueden preparar en otros sistemas de administración de fármacos tal como liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas. La composición farmacéutica para terapia génica puede estar en un diluyente aceptable o puede comprender una matriz de liberación lenta en la cual se incrusta el vehículo de administración génica.

[00298] Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente se pueden formular para administración parenteral, administración subcutánea, administración intravenosa,

administración intramuscular, administración intraarterial, administración intraparenquimatosa, administración intratecal, administración intra-cisterna magna, administración intracerebroventricular o administración intraperitoneal. La composición farmacéutica también se puede formular o administrar mediante administración nasal, por rociamiento, oral, en aerosol, rectal o vaginal. En una modalidad, una composición farmacéutica proporcionada en la presente se administra al CNS o fluido ccefalorraquídeo (CSF), es decir, por inyección intraparenquimatosa, inyección intratecal, inyección intra-cisterna magna o inyección intracerebroventricular. La diana de tejido puede ser específica, por ejemplo, el CNS, o puede ser una combinación de varios tejidos, por ejemplo, el músculo y los tejidos de SNC. Tejido de ejemplo u otras dianas pueden incluir hígado, músculo esquelético, músculo cardíaco, depósitos adiposos, riñón, pulmón, endotelio vascular, epitelial, células hematopoyéticas, CNS y/o CSF. En una modalidad preferida, una composición farmacéutica proporcionada en la presente que comprende un ETF que favorece la expresión de SCN1A o GRN se administra a la inyección de CNS o CSF, es decir, por inyección intraparenquimatosa, inyección intratecal, inyección intra-cisterna magna o inyección intracerebroventricular. Uno o más de estos métodos se pueden usar para administrar una composición farmacéutica de

la descripción.

[00299] En ciertas modalidades, una composición farmacéutica proporcionada en la presente comprende una “cantidad efectiva” o una "cantidad terapéuticamente efectiva. ” Como se usa en la presente, estas cantidades se refieren a una cantidad efectiva, a dosis y durante periodos de tiempo necesarios para lograr el resultado terapéutico deseado, tal como incrementar el nivel de expresión de SCN1A y/o disminuir la frecuencia y/o duración de convulsiones o incrementar el nivel de expresión de GRN y/o tratar una enfermedad o trastorno asociado con GRN tal como FTD.

[00300] La dosis de las composiciones farmacéuticas de la descripción depende de factores que incluyen la ruta de administración, la enfermedad que se va a tratar y características físicas (por ejemplo, edad, peso, salud general) del sujeto. La dosis se puede ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Habitualmente, una dosis puede ser una cantidad que trata de manera efectiva la enfermedad sin inducir toxicidad significativa. En una modalidad, un vector AAV proporcionado en la presente se puede administrar al paciente para el tratamiento de una deficiencia de SCN1A (incluyendo, por ejemplo, síndrome de Dravet) o para tratamiento de una deficiencia de GRN (incluyendo, por ejemplo, FTD) en una cantidad o dosis dentro de un intervalo de $5x10^{11}$ a $1x10^{14}$ gc/kg (copias genómicas por

kilogramo de peso corporal del paciente (gc/kg)). En una modalidad más particular, el vector AAV se administra en una cantidad comprendida dentro de un intervalo de aproximadamente $5x10^{11}$ gc/kg to aproximadamente $3x10^{13}$ gc/kg, o aproximadamente $1x10^{12}$ a aproximadamente $1x10^{14}$ gc/kg, o aproximadamente $1x10^{12}$ a aproximadamente $1x10^{13}$ gc/kg, o aproximadamente $5x10^{11}$ gc/kg, $1x10^{12}$ gc/kg, $1.5x10^{12}$ gc/kg, $2.0x10^{12}$ gc/kg, $2.5x10^{12}$ gc/kg, $3x10^{12}$ gc/kg, $3.5x10^{12}$ gc/kg, $4x10^{12}$ gc/kg, $4.5x10^{12}$ gc/kg, $5x10^{12}$ gc/kg, $5.5x10^{12}$ gc/kg, $6x10^{12}$ gc/kg, $6.5x10^{12}$ gc/kg, $7x10^{12}$ gc/kg, $7.5x10^{12}$ gc/kg, $8x10^{12}$ gc/kg, $8.5x10^{12}$ gc/kg, $9x10^{12}$ gc/kg o $9.5x10^{12}$ gc/kg. Se puede determinar gc/kg , por ejemplo, por qPCR o PCR de gota digital (ddPCR) (ver, por ejemplo, M. Lock et al, Hum Gene Ther Methods. 2014 Apr;25(2): 115-25). En otra modalidad, se puede administrar un vector AAV proporcionado en la presente al paciente para el tratamiento de una deficiencia de SCN1A (incluyendo, por ejemplo, síndrome de Dravet) en una cantidad o dosis dentro de un intervalo de $1x10^{9}$ a $1x10^{11}$ iu/kg (unidades infecciosas del vector (iu)/peso corporal del sujeto o paciente (kg)). En ciertas modalidades, la composición farmacéutica se puede formar en una dosis unitaria como sea necesario. Estas unidades de dosis individual pueden contener aproximadamente $1x10^{9}$ gc a aproximadamente $1x10^{15}$ gc.

[00301] Las composiciones farmacéuticas de la descripción se

pueden administrar a un sujeto en necesidad de lo mismo, por ejemplo, una o más veces (por ejemplo, 1 -10 veces o más) diariamente, semanalmente, mensualmente, bianualmente, anualmente o como sea médicamente necesario. En una modalidad de ejemplo, una administración individual es suficiente. En una modalidad, una composición farmacéutica que comprende un casete de expresión que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A o GRN es adecuada para su uso en sujetos humanos y se administra por inyección intraparenquimatosa, inyección intratecal, inyección intra-cisterna magna o inyección intracerebroventricular. En una modalidad, la composición farmacéutica se administra mediante una vena periférica por inyección en bolo. En otras modalidades, la composición farmacéutica se administra mediante una vena periférica por infusión durante aproximadamente 10 minutos (±5 minutos), durante aproximadamente 20 minutos (±5 minutos), durante aproximadamente 30 minutos (±5 minutos), durante aproximadamente 60 minutos (±5 minutos) o durante aproximadamente 90 minutos (±10 minutos).

[00302] En otro aspecto, la solicitud proporciona además un kit que comprende una molécula de ácido nucleico, vector, célula hospedadora, virión o composición farmacéutica como se describe en la presente en uno o más recipientes. Un kit puede incluir instrucciones o materiales de empaquetado que describen cómo administrar una molécula de ácido nucleico,

vector, célula hospedadora o virión contenido dentro del kit a un paciente. Los recipientes del kit pueden ser de cualquier material adecuado, por ejemplo, vidrio, plástico, metal, etc., y de cualquier tamaño, forma o configuración adecuada. En ciertas modalidades, los kits pueden incluir una o más ampollas o jeringas que contienen una molécula de ácido nucleico, vector, célula hospedadora, virión o composición farmacéutica en una forma líquida o solución adecuada.

Métodos de Tratamiento

[00303] En diferentes modalidades, la solicitud proporciona métodos para usar los eTF descritos en la presente. En ciertas modalidades, la solicitud proporciona métodos para administrar un casete de expresión, un vector de expresión o una partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF descrito en la presente para modular la expresión de un gen de interés en una célula. En ciertas modalidades, el eTF puede favorecer la expresión del gen de interés. En otras modalidades, el eTF puede reducir la expresión del gen de interés. En diferentes modalidades, el eTF se puede usar para modular la expresión de un gen de interés en una célula *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*.

[00304] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona métodos para tratar una enfermedad o trastorno asociado con un gen de interés al administrar un casete de expresión, un

vector de expresión o una partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que modula la expresión del gen de interés a un sujeto en necesidad de lo mismo. En modalidades de ejemplo, la enfermedad o trastorno se asocia con haploinsuficiencia del gen de interés y el casete de expresión, vector de expresión o partícula viral comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión del gen de interés. En ciertas modalidades, un método para tratar una enfermedad o trastorno comprende administrar un casete de expresión, un vector de expresión o una partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que modula la expresión de un gen endógeno de interés asociado con esta enfermedad o trastorno de modo que se corrije la sobreexpresión o la subexpresión de este gen, se coloque dentro de un nivel de un individuo sano o se coloque dentro de un intervalo normal tal como lo define una norma de cuidado médico. En ciertas modalidades, los métodos descritos en la presente se usan para tratar una enfermedad o trastorno asociado con un gen endógeno que comprende una o más mutaciones que dan por resultado la expresión anormal del gen. En algunos casos, este gen endógeno es un gen que es demasiado grande para que se administre como transgén en una terapia génica, o se expresa de manera ineficiente cuando se administra como un transgén.

[00305] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona métodos para mejorar un síntoma asociado con una enfermedad o trastorno al administrar un casete de expresión, un vector de expresión o una partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que modula la expresión de un gen asociado con esta enfermedad o trastorno a un sujeto en necesidad de lo mismo.

[00306] En una modalidad de ejemplo, la solicitud proporciona métodos para tratar una enfermedad, trastorno o síntoma con una mutación en SCN1A, una deficiencia en Nav1.1 y/o actividad reducida de Nav1.1 al administrar a un sujeto en necesidad de lo mismo un casete de expresión, un vector de expresión o una partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión del gen SCN1A o su producto de proteína Nav1.1. Los canales iónicos de sodio bloqueados por voltaje son importantes para la generación y propagación de potenciales de acción en músculos estriados y tejidos neuronales. Los canales iónicos de sodio bloqueados por voltaje son complejos heteroméricos que consisten en una subunidad alfa glicosilada formadora de poros central grande y 2 subunidades beta auxiliares más pequeñas. La subunidad alfa grande Nav1.1, codificada por el gen SCN1A, es pertinente para una variedad de enfermedades o trastornos tal como el síndrome de Dravet. Nav1.1 se expresa en neuronas y se puede ensamblar con varias

subunidades beta, incluyendo Navβ1 expresada por el gen SCN1B.

[00307] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona métodos para tratar enfermedades asociadas con una mutación en SCN1A o actividad reducida de Nav1.1 usando un eTF que aumenta la expresión del gen SCN1A endógeno. Las enfermedades y trastornos asociados con mutaciones de SCN1A incluyen, pero no se limitan a: síndrome de Dravet, síndrome de Ohtahara, epilepsia, encefalopatía epiléptica infantil temprana 6 (EIEE6), convulsiones febriles familiares 3A (FEB3A), epilepsia infantil intratable con convulsiones tónico-clónicas generalizadas (ICEGTC), migraña, migrañana hemipléjica familiar 3 (FHM3), síndrome de Panayiotopoulos, fibrilación auricular familiar 13 (ATFB13), epilepsia generalizada con convulsiones febriles más tipo 1 (gefs+ tipo 1), síndrome de Brugada, defecto de conducción cardíaca no específico, epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus, convulsiones infantiles familiares benignas, encefalopatía epiléptica infantil temprana 11 (EIEE11), epilepsia infantil familiar benigna, neurodegeneración, tauopatías y enfermedad de Alzheimer. En algunos casos, la condición neurológica es síndrome de Dravet. Las mutaciones o anormalidades en SCN1A también se han asociado con trastornos convulsivos, epilepsia, autismo, migraña hemipléjica familiar tipo 3 (FHM3), epilepsia genética con

convulsiones febriles plus (GEFS+) y eficacia de ciertos medicamentos anticonvulsivos. Por ejemplo, la mutación ICS5N+5G>A en SCN1A se asocia con la cantidad (dosis) máxima segura de los fármacos anticonvulsivos, fenitoína y carbamazepina.

[00308] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona un método para tratar a un sujeto con, o en riesgo de desarrollar, síndrome de Dravet al administrar un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A. El síndrome de Dravet se ha caracterizado por convulsiones febriles y no febriles prolongadas durante el primer año de vida de un niño. Esta enfermedad progresa a otros tipos de convulsiones como convulsiones mioclónicas y parciales, retraso psicomotor y ataxia. Se caracteriza por deterioro cognitivo, trastornos de comportamiento y déficits motores. Los déficits de comportamiento frecuentemente incluyen hiperactividad e impulsividad, y en casos más raros, comportamientos autistas. El síndrome de Dravet también se asocia con trastornos del sueño incluyendo somnolencia e insomnio. En muchos pacientes, el síndrome de Dravet es provocado por mutaciones genéticas que conducen a la producción de proteínas no funcionales. Existen muchos desafíos al tratar trastornos asociados con causas genéticas. Por lo tanto, la mayoría de los

tratamientos existentes se han centrado al manejo médico profiláctico de convulsiones y otros síntomas.

[00309] En 70-90% de los pacientes, el síndrome de Dravet se provoca por mutaciones sin sentido en el gen SCN1A que dan por resultado un codón de finalización prematuro y por lo tanto, una proteína no funcional. Habitualmente, una mutación de sentido erróneo ya sea en el segmento S5 o S6 del poro de canal de sodio da por resultado una pérdida de función de canal y el desarrollo del síndrome de Dravet. Una herencia heterocigota de una mutación de SCN1A es todo lo que es necesario para desarrollar un canal de sodio defectuoso; los pacientes con síndrome de Dravet todavía tendrán una copia normal del gen. Por lo tanto, la enfermedad se caracteriza como una de haploinsuficiencia y el incremento de la expresión de la copia funcional de SCN1A puede restaurar los niveles normales de producción de Nav1.1.

[00310] Los síntomas asociados con el síndrome de Dravet incluyen convulsiones, defectos de memoria, retraso en el desarrollo, tono muscular deficiente y/o problemas cognitivos. El tratamiento con un casete de expresión, vector de expresión o partícula virial descrita en la presente puede dar por resultado una mejora de uno o más síntomas, tal como una reducción en número, duración y/o intensidad de convulsiones. La administración de una terapia génica como se describe en la presente a un sujeto en riesgo de desarrollar

síndrome de Dravet puede impedir el desarrollo de o desacelerar la progresión de uno o más síntomas de Dravet.

[00311] En ciertas modalidades, el tratamiento con un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A como se describe en la presente reduce la duración y/o frecuencia de convulsiones, por ejemplo, convulsiones asociadas con síndrome de Dravet, por al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o más en comparación con un control no tratado o en comparación con el nivel antes de tratamiento.

[00312] En algunos pacientes con Alzheimer, la producción de β amiloide (Aβ) que implica muchos péptidos y proteasas que pueden afectar la excitabilidad de neuronas, provocando convulsiones y reducción de la expresión del canal de sodio de Nav1.1 en neuronas de PV. En otra modalidad, la solicitud proporciona métodos para tratar a un sujeto que padece de enfermedad de Alzheimer al administrar un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral descrita en la presente que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A. Los síntomas asociados con la enfermedad de Alzheimer incluyen pérdida de

memoria a corto plazo, dificultades cognitivas, convulsiones y dificultades con el lenguaje, funciones ejecutivas, percepción (agnosia) y ejecución de movimientos (apraxia). El tratamiento con un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A puede dar por resultado una mejora de uno o más síntomas de la enfermedad de Alzheimer, tal como una reducción en la progresión de pérdida de memoria o la prevención de uno o más síntomas. En algunos casos, el tratamiento puede dar por resultado una corrección de actividad cerebral de alto potencia gamma. El tratamiento puede dar por resultado una disminución en la frecuencia de convulsiones y/o severidad de convulsiones, o una disminución en la actividad de alta potencia gamma por al menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% o más en comparación a sin tratamiento. En algunos casos, el tratamiento puede dar por resultado una mejora en la función cognitiva. El aprendizaje y/o memoria se pueden mejorar por al menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% o más de 100% en comparación a sin tratamiento, o antes del tratamiento con un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A como se describe en la presente.

[00313] En algunos casos, el tratamiento con un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que

favorece la expresión de SCN1A reduce la actividad de alta potencia gamma (por ejemplo, actividad de alta potencia gamma asociada con enfermedad de Alzheimer) por al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% en comparación con un control no tratado o en comparación con el nivel antes de tratamiento.

[00314] El parkinsonismo se refiere a una recolección de signos y síntomas encontrados en la enfermedad de Parkinson (PD), incluyendo lentitud (bradicinesia), tiesura (rigidez), temblor y desequilibrio (inestabilidad postural). En algunos casos, la administración de un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A como se describe en la presente a un sujeto en riesgo de desarrollar o padecer de enfermedad de Parkinson puede impedir el desarrollo de uno o más síntomas de la misma o desacelerar la progresión de la enfermedad de Parkinson por al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80% o al menos 90% en comparación a sin tratamiento.

[00315] En ciertas modalidades, la solicitud proporciona métodos que se pueden usar para tratar a un sujeto que está

en riesgo de desarrollar una enfermedad. Se puede saber que el sujeto está predispuesto a una enfermedad, por ejemplo, una enfermedad neurológica o una enfermedad asociada con epilepsia, convulsiones y/o encefalopatía. El sujeto puede estar predispuesto a una enfermedad debido a un evento genético o debido a factores de riesgo conocidos. Por ejemplo, un sujeto puede portar una mutación en SCN1A que se asocia con síndrome de Dravet. En algunos casos, el sujeto puede estar predispuesto a una enfermedad tal como enfermedad de Alzheimer debido a la edad del sujeto. En algunos casos, el sujeto puede tener una cantidad insuficiente de proteína SCN1A y el tratamiento de una enfermedad asociada con SCN1A implica administrar un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A endógeno como se describe en la presente.

[00316] En ciertas modalidades, los tratamientos que usan un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de SCN1A endógeno proporcionado en la presente puede dar por resultado una disminución o cese de síntomas asociados con Dravet u otra enfermedad o trastornos asociados con SCN1A. Por ejemplo, el tratamiento puede mejorar el aprendizaje, memoria, función cognitiva y/o función motora; reducir la frecuencia y/o duración de las

convulsiones; y/o reducir la sensibilidad a temperatura (o incrementar el umbral de temperatura para provocar una convulsión).

[00317] En otra modalidad de ejemplo, la solicitud proporciona métodos para tratar una enfermedad o trastorno asociado con una mutación en el gen GRN o una deficiencia en o actividad reducida de proteína GRN al administrar a un sujeto en necesidad de lo mismo un casete de expresión, un vector de expresión o una partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión del gen GRN o producto de proteína.

[00318] La progranulina es una glicoproteína secretada rica en cisteína con propiedades similares al factor de crecimiento y pertenece a una familia de proteínas de granulina. Las granulinas (por ejemplo, granulina A a G y paragranulina) juegan un papel en angiogénesis, reparación de heridas, proliferación celular e inflamación. Las mutaciones en el gen progranulina, o deficiencia en progranulina secretada, se asocian con diferentes enfermedades neurodegenerativas y enfermedades metabólicas. La deficiencia de la proteína de granulina secretada en el sistema nervioso central (CNS) puede conducir a neurodegeneración, incluyendo degeneración lobular frontotemporal (FTLD); degeneración frontotemporal o demencia frontotemporal (FTD), una enfermedad neurodegenerativa de inicio temprano asociada con

deficiencia parcial de progranulina; afasia progresiva no fluente (PNFA); demencia semántica; enfermedad de Parkinson; enfermedad de Alzheimer; y lipofuscinoisis ceroide neuronal (NCL) con deficiencia total de progranulina. FTD se refiere a un grupo de enfermedades neurodegenerativas complejas caracterizadas por deterioro progresivo de los lóbulos frontotemporales que dan por resultado cambios en el comportamiento y/o habla, tal como pérdida de coordinación motora, disfunción social, pérdida de memoria y temblores musculares.

[00319] En general, los pacientes con una o más mutaciones patogénicas en una copia del gen de progranulina desarrollan FTD, que es un subtipo de FTLD. Los síntomas clínicos de FTLD incluyen atrofia de los lóbulos temporales prefrontal y/o anterior, demencia frontotemporal de comportamiento, caracterizada por disfunción social y ejecutiva, demencia semántica y afasia primaria progresiva no fluente, con alteraciones tempranas de lenguaje. FTD es una alteración de comportamiento de adulto seguida de demencia de lóbulo frontal, parkinsonismo y atrofia muscular.

[00320] La progranulina también se ha implicado en enfermedades metabólicas y se reconoce como una adipoquina implicada en obesidad inducida por dieta y resistencia a insulina. La mutación o deficiencia en progranulina se ha relacionado con aterosclerosis, una enfermedad progresiva

caracterizada por un fuerte componente inflamatorio y engrosamiento de las paredes arteriales debido a acumulación de lípidos y proliferación celular.

[00321] Las mutaciones en GRN pueden incluir mutaciones sin sentido, mutaciones en sitio de empalme; inserciones y eliminaciones que conducen a un cambio en el marco de lectura normal; y diferentes mutaciones puntuales. Las mutaciones sin sentido, en el sitio de empalme y en el cambio de marco pueden conducir a haploinsuficiencia debido a descomposición mediada por ARNm sin sentido o degradación nuclear de transcripciones. Se han observado mutaciones de sentido erróneo en algunos pacientes con FTLD esporádica, enfermedad de Alzheimer y esclerosis lateral amiotrófica (ALS). Diferentes mutaciones en GRN que se asocian con una enfermedad o trastorno se conocen e incluyen mutaciones en la región codificadora de GRN, por ejemplo, -8+5G>C; -8+3A>T; 2T>C, 3G>A, 26CA(A9D); 63_64insC; 90_91insCTGC; 102ΔC; 138+1G>A; 154ΔA; 234_235ΔAG; 243ΔC; 361ΔG; 373C>T; 380_381ΔCT; 384_387ΔTAGT; 388_391ΔCAGT; 463-1G>A; 468_474ΔCTGCTGT; 675_676ΔCA; 708+1G>A; 707+1G>C; 709-2A>G; 759_760ΔTG; 813_816ΔCACT; 835_835+1insCTGA; 836-1G>C; 909ΔC; 910_911insTG; 911G>A; 933+1G>A; 942C>A; 998ΔG; 1095_1096ΔCT; 1145ΔC; 1157G>A; 1201C>T; 1231_1232ΔGT; 1232_1233insGT; 1252C>T; 1395_1296insC; 1402C>T; 1414-15_1590Δ; 1477C>T; o una combinación de lo mismo. Ver Eriksen JL, Mackenzie IR.

Progranulin: normal function and role in neurodegeneration. *J Neurochem*. 2008 Jan;104(2):287-97. Actualmente, no existe cura para estas enfermedades neurodegenerativas relacionadas con GRN y enfermedades metabólicas. Existe la necesidad de opciones de tratamiento que se dirijan o tomen como diana a GRN, por ejemplo, terapias que incrementen los niveles y/o función *in vivo* de progranulina.

[00322] En ciertas modalidades, un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente se puede usar para tratar a un sujeto en necesidad de lo mismo, en donde el sujeto tiene una o más de las mutaciones de GRN listadas anteriormente. En algunos casos, el sujeto en necesidad de lo mismo comprende una haploinsuficiencia en GRN o una deficiencia en GRN. En algunos casos, el sujeto en necesidad de lo mismo tiene o está en riesgo de FTD, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o aterosclerosis.

[00323] En ciertas modalidades, un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente se administra a un sujeto con o en riesgo de desarrollar FTD, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o

aterosclerosis. En otro ejemplo, el tratamiento se puede administrar a un sujeto que padece FTD, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o aterosclerosis. El tratamiento con un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente puede dar por resultado una mejora de uno o más síntomas asociados con FTD, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o aterosclerosis, tal como una reducción en uno o más síntomas asociados con cambios de comportamiento y/o habla debidos a FTD, o una reducción en el espesor de las paredes arteriales en aterosclerosis. Otros síntomas asociados con trastornos de sistema nervioso central relacionados con GRN incluyen, por ejemplo, presencia de cuerpos de Lewy, haploinsuficiencia de progranulina (GRN), déficit social, anormalidad lisosomal, pérdida de coordinación motora, temblores musculares. En ciertas modalidades, el tratamiento puede dar por resultado una restauración del función o nivel de expresión de GRN por al menos 5%, al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60% o al menos 70% en comparación con GRN tipo silvestre. En ciertas modalidades, el tratamiento puede dar por resultado una mejora en la función cognitiva, tal como mejora de habla y/o memoria por al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al

menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100% o más de 100%, en comparación con el pretratamiento. En ciertas modalidades, el tratamiento con un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente puede retrasar los síntomas o detener la progresión de los síntomas asociados con FTD, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o aterosclerosis. En algunos casos, el tratamiento con un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente puede incrementar la reparación celular o revertir el daño celular en el CNS, la corteza frontal o en el cuerpo estriado por al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90% o al menos 100% en comparación a sin tratamiento. En algunos casos, el tratamiento de un trastorno de sistema nervioso central relacionado con GRN comprende reducir la frecuencia y/o severidad de temblores musculares.

[00324] En ciertas modalidades, un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente se

puede usar para tratar a un sujeto que se ha diagnosticado con una enfermedad, por ejemplo, una enfermedad neurológica o neurodegenerativa o una enfermedad metabólica asociada con GRN. El sujeto puede ser un paciente que padece FTD, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o aterosclerosis. En algunos aspectos, el sujeto es un paciente con FTD. El sujeto puede ser un paciente que padece una enfermedad o condición relacionada con GRN, tal como demencia o una enfermedad metabólica. En algunos casos, las pruebas genéticas se pueden usar para examinar a pacientes para mutaciones en el gen GRN. Si el paciente comprende una mutación patológica en GRN, un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente se puede usar para impedir, mitigar o tratar la progresión de la neurodegeneración o enfermedad metabólica, por ejemplo, FTD, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o aterosclerosis.

[00325] En ciertas modalidades, un sujeto tratado con un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente es uno diagnosticado con una mutación o aberración genética en GRN. Esta mutación puede ser homocigota o

heterocigota, o una inserción, eliminación o sustitución aberrante de una o más bases en el gen GRN que afectan la expresión, secreción, solubilidad, actividad y/o escisión proteolítica *in vivo* de proteína.

[00326] En ciertas modalidades, un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente se puede usar para tratar a un sujeto que tiene o en riesgo de una enfermedad neurodegenerativa o metabólica asociada con una mutación de GRN y/o deficiencia para incrementar la función y/o expresión de GRN *in vivo* a fin de tratar, impedir o reducir los efectos de la enfermedad, por ejemplo, FTLD, FTD, afasia progresiva no fluente, demencia semántica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, NCL, diabetes o aterosclerosis. En algunos casos, un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente se usa para tratar, mejorar, reducir o manejar síntomas de estas enfermedades, por ejemplo, trastornos del habla, déficit social, coordinación motora o habilidades motoras deterioradas, atrofia muscular, temblores musculares, atrofia neuronal, pérdida de memoria, parkinsonismo y/o anormalidad lisosomal. En algunos casos, estas composiciones

se usan para disminuir la inflamación, disminuir muerte celular, disminuir atrofia neuronal, disminuir atrofia de neuronas motoras y/o incrementar la reparación celular en el CNS o en la corteza frontal o el cuerpo estriado en particular.

[00327] En ciertas modalidades, un casete de expresión, vector de expresión o partícula viral que comprende un polinucleótido que codifica para un eTF que favorece la expresión de GRN endógeno como se describe en la presente se puede usar para tratar a un sujeto que está en riesgo de desarrollar una enfermedad neurodegenerativa o metabólica. Se puede saber que el sujeto está predispuesto a una enfermedad, por ejemplo, una enfermedad neurológica o metabólica a través de diferentes métodos de diagnóstico o examen, incluyendo métodos que buscan mutaciones genéticas en GRN o pruebas de sangre para niveles de la proteína GRN secretada. El sujeto puede estar predispuesto a una enfermedad debido a un evento genético o debido a factores de riesgo conocidos. Por ejemplo, un sujeto puede portar una mutación en GRN que se asocia con FTD, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o aterosclerosis. En algunos casos, el sujeto puede tener una cantidad insuficiente de la proteína GRN o isoformas de la misma. Por ejemplo, se puede saber que el sujeto tiene una cantidad insuficiente de proteína GRN.

[00328] Los términos “sujeto” e “individuo” se usan

indistintamente en la presente para referirse a un vertebrado, preferentemente un mamífero, más preferentemente un humano. Los métodos descritos en la presente pueden ser útiles en productos terapéuticos humana, aplicaciones veterinarias y/o estudios preclínicos en modelos animales de una enfermedad o condición. En diferentes modalidades, un sujeto que se puede tratar de acuerdo con los métodos descritos en la presente es un mamífero, tal como, por ejemplo, un ratón, rata, hámster, conejillo de indias, jerbo, vaca, oveja, cerdo, cabra, burro, caballo, perro, gato, llama, mono (por ejemplo, un macaco tal como un Rhesus o cynomolgus) o humano. En una modalidad de ejemplo, un sujeto es un humano.

[00329] Las siguientes tablas proporcionan secuencias descritas en la presente.

Tabla 1: Loci genómicos y secuencias de proteínas de SCN1A y GRN

Ubicación cromosómica del gen endógeno de interés	Proteína SEQ ID NO.	Secuencia de aminoácidos (extremo N-a-C-terminal)
SCN1A pares de bases 165,989,160 a 166,149,216 en cromosoma 2 (Homo	SEQ ID NO: 180	MEQTVLVPPGPDSFNFFTRESLAAIERRIAEEKAKNPKPDKKDDDENGPKPNSDLEAGKNLPFIYGD IPPEMVSEPLEDLDPYYINKKTFIVLNKGKAIFRFSATSALYILTPFNPLRKIAIKILVHSLFSMLI MCTILTNCVFMTMSNPPDWTKNVEYTFTGIYTFESLIKIIARGFCLEDFTFLRDPWNWLDFTVITFA YVTEFVDLGNVSALRTFRVLRALKTISVIPGLKTIVGALIQSVKKLSDVMILTVFCLSVFALIGLQL FMGNLRNKCIQWPPTNASLEEHSIEKNITVNYNGTLINETVFEFDWKSYIQDSRYHYFLEGFLDALL CGNSSDAGQCPEGYMCVKAGRNPNYGYTSFDTFSWAFLSLFRLMTQDFWENLYQLTLRAAGKTYMIF FVLVIFLGSFYLINLILAVVAMAYEEQNQATLEEAEQKEAEFQQMIEQLKKQQEAAQQAATATASEH SREPSAAGRLSDSSSEASKLSSKSAKERRNRRKKRKQKEQSGGEEKDEDEFQKSESEDSIRRKGFRF SIEGNRLTYEKRYSSPHQSLLSIRGSLFSPRRNSRTSLFSFRGRAKDVGSENDFADDEHSTFEDNES RRDSLFVPRRHGERRNSNLSQTSRSSRMLAVFPANGKMHSTVDCNGVVSLVGGPSVPTSPVGQLLPE

sapiens Annotation Release 109, GRCh38.p12)		VIIDKPATDDNGTTTETEMRKRRSSSFHVSMDFLEDPSQRQRAMSIASILTNTVEELEESRQKCPPC WYKFSNIFLIWDCSPYWLKVKHVVNLVVMDPFVDLAITICIVLNTLFMAMEHYPMTDHFNNVLTVGN LVFTGIFTAEMFLKIIAMDPYYYFQEGWNIFDGFIVTLSLVELGLANVEGLSVLRSFRLLRVFKLAK SWPTLNMLIKIIGNSVGALGNLTLVLAIIVFIFAVVGMQLFGKSYKDCVCKIASDCQLPRWHMNDFF HSFLIVFRVLCGEWIETMWDCMEVAGQAMCLTVFMMVMVIGNLVVLNLFLALLLSSFSADNLAATDD DNEMNNLQIAVDRMHKGVAYVKRKIYEFIQQSFIRKQKILDEIKPLDDLNNKKDSCMSNHTAEIGKD LDYLKDVNGTTSGIGTGSSVEKYIIDESDYMSFINNPSLTVTVPIAVGESDFENLNTEDFSSESDLE ESKEKLNESSSSSEGSTVDIGAPVEEQPVVEPEETLEPEACFTEGCVQRFKCCQINVEEGRGKQWWN LRRTCFRIVEHNWFETFIVFMILLSSGALAFEDIYIDQRKTIKTMLEYADKVFTYIFILEMLLKWVA YGYQTYFTNAWCWLDFLIVDVSLVSLTANALGYSELGAIKSLRTLRALRPLRALSRFEGMRVVVNAL LGAIPSIMNVLLVCLIFWLIFSIMGVNLFAGKFYHCINTTTGDRFDIEDVNNHTDCLKLIERNETAR WKNVKVNFDNVGFGYLSLLQVATFKGWMDIMYAAVDSRNVELQPKYEESLYMYLYFVIFIIFGSFFT LNLFIGVIIDNFNQQKKKFGGQDIFMTEEQKKYYNAMKKLGSKKPQKPIPRPGNKFQGMVFDFVTRQ VFDISIMILICLNMVTMMVETDDQSEYVTTILSRINLVFIVLFTGECVLKLISLRHYYFTIGWNIFD FVVVILSIVGMFLAELIEKYFVSPTLFRVIRLARIGRILRLIKGAKGIRTLLFALMMSLPALFNIGL LLFLVMFIYAIFGMSNFAYVKREVGIDDMFNFETFGNSMICLFQITTSAGWDGLLAPILNSKPPDCD PNKVNPGSSVKGDCGNPSVGIFFFVSYIIISFLVVVNMYIAVILENFSVATEESAEPLSEDDFEMFY EVWEKFDPDATQFMEFEKLSQFAAALEPPLNLPQPNKLQLIAMDLPMVSGDRIHCLDILFAFTKRVL GESGEMDALRIQMEERFMASNPSKVSYQPITTTLKRKQEEVSAVIIQRAYRRHLLKRTVKQASFTYN KNKIKGGANLLIKEDMIIDRINENSITEKTDLTMSTAACPPSYDRVTKPIVEKHEQEGKDEKAKGK
GRN pares de bases 44,345,086 a 44,353,106 en el cromosoma 17 (Homo sapiens Annotation Release 109, GRCh38.p12)	SEQ ID NO: 181	MWTLVSWVALTAGLVAGTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHC SAGHSCIFTVSGTSSCCPFFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFECP DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVA LSSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATT DLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTC EQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQH CCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQL PHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRD NRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL

Tabla 2: Secuencias de eTF que tienen una alta identidad de secuencia con EGR1/EGR3 humana

	Secuencia de aminoácidos (extremo N- a C-terminal)
Secuencias de eTF que tienen una alta identidad de secuencia con EGR1 humana	
SEQ ID NO: 1	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSRSDELTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSRSDHLTTHIRTHTGEKPFACD ICGRKFARSDERKRHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTT SYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSF PSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 2	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHELEPGEKP YKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYK CPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKK ADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTY PSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRT IEIC
SEQ ID NO: 3	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACD ICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTT

	SYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSF PSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 4	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACD ICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPF QCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDKK ADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTY PSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRT IEIC
SEQ ID NO: 5	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACD ICGRKFAQSSNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDKKADKS VVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPV HSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 6	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACD ICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPF

	QCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKK ADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTY PSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRT IEIC
SEQ ID NO: 7	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACD ICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPF QCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKK ADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTY PSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRT IEIC
SEQ ID NO: 8	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACD ICGRKFAREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKS VVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPV HSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 9	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV

	ESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSRSDHLTNHIRTHTGEKPFACD ICGRKFARSDDLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPF QCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRP YACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEK PFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYP SPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPA QVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 10	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACD ICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPF QCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDKK ADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTY PSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRT IEIC
SEQ ID NO: 325	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEG SGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEK VLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASS SSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGS AGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPS LTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPV ESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACD ICGRKFAREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKS VVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPV HSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
Secuencias de eTF que tienen una alta identidad de secuencia con EGR3 humana	

SEQ ID NO: 11	MTGKLAEKLPVTMSSLLNQLPDNLYPEEIPSALNLFSGSSDSVVHYNQMATENVMDI GLTNEKPNPELSYSGSFQPAPGNKTVTYLGKFAFDSPSNWCQDNIISLMSAGILGVP PASGALSTQTSTASMVQPPQGDVEAMYPALPPYSNCGDLYSEPVSFHDPQGNPGLAY SPQDYQSAKPALDSNLFPMIPDYNLYHHPNDMGSIPEHKPFQGMDPIRVNPPPITPL ETIKAFKDKQIHPGFGSLPQPPLTLKPIRPRKYPNRPSKTPLHERPHACPAEGCDRR FSQLAHLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKF AHRTTLTNHAKIHLKQKEKKAEKGGAPSASSAPPVSLAPVVTTCA
SEQ ID NO: 12	MTGKLAEKLPVTMSSLLNQLPDNLYPEEIPSALNLFSGSSDSVVHYNQMATENVMDI GLTNEKPNPELSYSGSFQPAPGNKTVTYLGKFAFDSPSNWCQDNIISLMSAGILGVP PASGALSTQTSTASMVQPPQGDVEAMYPALPPYSNCGDLYSEPVSFHDPQGNPGLAY SPQDYQSAKPALDSNLFPMIPDYNLYHHPNDMGSIPEHKPFQGMDPIRVNPPPITPL ETIKAFKDKQIHPGFGSLPQPPLTLKPIRPRKYPNRPSKTPLHERPHACPAEGCDRR FSRRDELNVHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACEFCGRKF AQSSNLVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQLAHLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRS FSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAHRTTLTNHAKIHLKQKEKKAEKGGAPS ASSAPPVSLAPVVTTCA
SEQ ID NO: 13	MTGKLAEKLPVTMSSLLNQLPDNLYPEEIPSALNLFSGSSDSVVHYNQMATENVMDI GLTNEKPNPELSYSGSFQPAPGNKTVTYLGKFAFDSPSNWCQDNIISLMSAGILGVP PASGALSTQTSTASMVQPPQGDVEAMYPALPPYSNCGDLYSEPVSFHDPQGNPGLAY SPQDYQSAKPALDSNLFPMIPDYNLYHHPNDMGSIPEHKPFQGMDPIRVNPPPITPL ETIKAFKDKQIHPGFGSLPQPPLTLKPIRPRKYPNRPSKTPLHERPHACPAEGCDRR FSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKF ARSDELVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQSGNLTEHLRIHTGHKPFQCRICMRS FSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQNSTLTEHAKIHLKQKEKKAEKGGAPS ASSAPPVSLAPVVTTCA
SEQ ID NO: 14	MTGKLAEKLPVTMSSLLNQLPDNLYPEEIPSALNLFSGSSDSVVHYNQMATENVMDI GLTNEKPNPELSYSGSFQPAPGNKTVTYLGKFAFDSPSNWCQDNIISLMSAGILGVP PASGALSTQTSTASMVQPPQGDVEAMYPALPPYSNCGDLYSEPVSFHDPQGNPGLAY SPQDYQSAKPALDSNLFPMIPDYNLYHHPNDMGSIPEHKPFQGMDPIRVNPPPITPL ETIKAFKDKQIHPGFGSLPQPPLTLKPIRPRKYPNRPSKTPLHERPHACPAEGCDRR FSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACEFCGRKF AREDNLHTHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSTSHSLTEHLRIHTGHKPFQCRICMRS FSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAREDNLHTHAKIHLKQKEKKAEKGGAPS

	ASSAPPVSLAPVVTTCA
SEQ ID NO: 15	MTGKLAEKLPVTMSSLLNQLPDNLYPEEIPSALNLFSGSSDSVVHYNQMATENVMDI GLTNEKPNPELSYSGSFQPAPGNKTVTYLGKFAFDSPSNWCQDNIISLMSAGILGVP PASGALSTQTSTASMVQPPQGDVEAMYPALPPYSNCGDLYSEPVSFHDPQGNPGLAY SPQDYQSAKPALDSNLFPMIPDYNLYHHPNDMGSIPEHKPFQGMDPIRVNPPPITPL ETIKAFKDKQIHPGFGSLPQPPLTLKPIRPRKYPNRPSKTPLHERPHACPAEGCDRR FSRRDELNVHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSRSDHLTNHIRTHTGEKPFACEFCGRKF ARSDDLVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRS FSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAREDNLHTHAKIHLKQKEHACPAEGCDR RFSTSHSLTEHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRK FAREDNLHTHAKIHLKQKEKKAEKGGAPSASSAPPVSLAPVVTTCA
SEQ ID NO: 16	MTGKLAEKLPVTMSSLLNQLPDNLYPEEIPSALNLFSGSSDSVVHYNQMATENVMDI GLTNEKPNPELSYSGSFQPAPGNKTVTYLGKFAFDSPSNWCQDNIISLMSAGILGVP PASGALSTQTSTASMVQPPQGDVEAMYPALPPYSNCGDLYSEPVSFHDPQGNPGLAY SPQDYQSAKPALDSNLFPMIPDYNLYHHPNDMGSIPEHKPFQGMDPIRVNPPPITPL ETIKAFKDKQIHPGFGSLPQPPLTLKPIRPRKYPNRPSKTPLHERPHACPAEGCDRR FSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCGRKF AQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRS FSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKEKKAEKGGAPS ASSAPPVSLAPVVTTCA

Tabla 3: Secuencias de DBD de eTF descritas en la Tabla 2

eTF	**DBD SEQ ID NO:**	**Secuencia de aminoácidos del DBD (extremo N- a C-terminal)**
Secuencias de DBD de eTF que tienen una alta identidad de secuencia con EGR1		
SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 17	RPYACPVESCDRRFSRSDELTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSRSDHLT THIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDERKRHTKIHLRQKD

SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 18	LEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 19	RPYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 20	RPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 21	RPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 22	RPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 23	RPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 24	RPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 25	RPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSRSDHLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDDLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKD

SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 26	RPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLR VHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESC DRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEK PFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 325	SEQ ID NO: 351	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQC RICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHIRTHT GEKPFACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLV RHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVV
Secuencias de DBD de eTF que tienen una alta identidad de secuencia con EGR3		
SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 27	PHACPAEGCDRRFSQLAHLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSTSGNLVR HIRTHTGEKPFACEFCGRKFAHRTTLTNHAKIHLKQKE
SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 28	HACPAEGCDRRFSRRDELNVHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSSRRTCRAH IRTHTGEKPFACEFCGRKFAQSSNLVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRF SQLAHLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFAC EFCGRKFAHRTTLTNHAKIHLKQKE
SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 29	PHACPAEGCDRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHT HIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDELVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRR FSQSGNLTEHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFA CEFCGRKFAQNSTLTEHAKIHLKQKE
SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 30	PHACPAEGCDRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSHRTTLTN HIRTHTGEKPFACEFCGRKFAREDNLHTHAKIHLKQKEHACPAEGCDRR FSTSHSLTEHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFA CEFCGRKFAREDNLHTHAKIHLKQKE
SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 31	PHACPAEGCDRRFSRRDELNVHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSRSDHLTN HIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDDLVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRR FSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFA CEFCGRKFAREDNLHTHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSTSHSLTEHLR IHTGHKPFQCRICMRSFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARED NLHTHAKIHLKQKE

SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 32	PHACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRV HIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRR FSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFA CEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKE

Tabla 4: Secuencias de sitios diana reconocidas por eTF descritos en la Tabla 2

eTF	Plataforma de proteínas para eTF	Sitio diana SEQ IDNO:	Secuencia de sitio de unión a diana (5' a 3')	Diana génica	Identidad de secuencia NCBI-BLAST a plataforma de proteínas
SEQ ID NO: 1	WT EGR1	N/A	N/A	N/A	100%
SEQ ID NO: 2	EGR1	SEQ ID NO: 33	AGTGATAGAGAACGTATG	Indicador	87%
SEQ ID NO: 3	EGR1	SEQ ID NO: 34	AGTGATAGA	Indicador	97%
SEQ ID NO: 4	EGR1	SEQ ID NO: 33	AGTGATAGAGAACGTATG	Indicador	96%
SEQ ID NO: 5	EGR1	SEQ ID NO: 33	AGTGATAGAGAACGTATG	Indicador	94%
SEQ ID NO: 6	EGR1	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A	97%
SEQ ID NO: 7	EGR1	SEQ ID NO: 36	TAGGTACCATAGAGTGAG	SCN1A	96%
SEQ ID NO: 8	EGR1	SEQ ID NO: 36	TAGGTACCATAGAGTGAG	SCN1A	94%
SEQ ID NO: 9	EGR1	SEQ ID NO: 37	TAGGTACCATAGAGTGAGGCGA GGATG	SCN1A	97%
SEQ ID NO: 10	EGR1	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	GRN	95%
SEQ ID NO: 11	EGR3	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador	94%

SEQ ID NO: 12	EGR3	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador	96%
SEQ ID NO: 13	EGR3	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A	97%
SEQ ID NO: 14	EGR3	SEQ ID NO: 36	TAGGTACCATAGAGTGAG	SCN1A	96%
SEQ ID NO: 15	EGR3	SEQ ID NO: 37	TAGGTACCATAGAGTGAGGCGA GGATG	SCN1A	97%
SEQ ID NO: 16	EGR3	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	GRN	95%

Tabla 5: Diferentes tipos de estructuras de dedos de zinc y proteínas para generar eTF

Nombre de tipo ZF		**Estructura ZF (en donde cada x puede ser independientemente cualquier residuo)**	**Proteínas de ejemplo que pueden servir como la plataforma de proteínas para un eTF o un dominio de unión a ADN de un eTF descrito en la presente**
Dedos de zinc tipo C2H2 (ZNF)	SEQ ID NO: 39	C-x-C-x-H-x-H	KLF4, KLF5, EGR3, ZFP637, SLUG, ZNF750, ZNF281, ZBP89, GLIS1, GLIS3
Proteínas de dedo de anillo (RNF)	SEQ ID NO: 40	C-x-C-x-C-x-H-xxx-C-x-C-x-C-x-C	MDM2, BRCA1, ZNF179
Proteínas de dedo PHD (PHF)	SEQ ID NO: 41	C-x-C-x-C-x-C-xxx-H-x-C-x-C-x-C	KDM2A, PHF1, ING1
Dominio LIM que contiene	SEQ ID NO: 42	C-x-C-x-H-x-C-x-C-x-C-x-C-x-C-x-(C,H,D)	ZNF185, LIMK1, PXN
Receptores de hormonas nucleares (NR)	SEQ ID NO: 43	C-x-C-x-C-x-C-xxx-C-x-C-x-C-x-C	VDR, ESR1, NR4A1

Dedos de zinc tipo CCCH (ZC3H)	SEQ ID NO: 44	C-x-C-x-C-x-H	RC3H1, HELZ, MBNL1, ZFP36, ZFP36L1
Dedos de zinc tipo FYVE (ZFYVE)	SEQ ID NO: 43	C-x-C-x-C-x-C-xxx-C-x-C-x-C-x-C	EEA1, HGS, PIKFYVE
Dedos de zinc tipo CCHC (ZCCHC)	SEQ ID NO: 45	C-x-C-x-H-x-C	CNBP, SF1, LIN28A
Dedos de zinc tipo DHHC (ZDHHC)	SEQ ID NO: 46	C-x-C-x-H-x-C-xxx-C-x-C-x-H-x-C	ZDHHC2, ZDHHC8, ZDHHC9
Dedos de zinc tipo MYND (ZMYND)	SEQ ID NO: 47	C-x-C-x-C-x-C-xxx-C-x-C-x-H-x-C	PDCD2, RUNX1T1, SMYD2, SMYD1
Dedos de zinc tipo CCCH (ZCCHC)	SEQ ID NO: 48	C-x-C-x-C-x-C	YAF2, SHARPIN, EWSR1
Dedos de zinc tipo ZZ (ZZZ)	SEQ ID NO: 48	C-x-C-x-C-x-C	HERC2, NBR1, CREBBP
Dedos de zinc tipo C2HC (ZC2HC)	SEQ ID NO: 45	C-x-C-x-H-x-C	IKBKG, L3MBTL1, ZNF746
Dominio de dedos de zinc GATA que contiene (GATAD)	SEQ ID NO: 48	C-x-C-x-C-x-C	GATA4, GATA6, MTA1
Pseudogenes y homeoboxes clase ZF	SEQ ID NO: 39	C-x-C-x-H-x-H	ADNP, ZEB1, ZHX1
Dominio THAP que contiene (THAP)	SEQ ID NO: 44	C-x-C-x-C-x-H	THAP1, THAP4, THAP11

Dedos de zinc tipo CXXC (CXXC)	SEQ ID NO: 43	C-x-C-x-C-x-C-xxx-C-x-C-x-C-x-C	CXXC1, CXXC5, MBD1, DNMT1
Dedos de zinc tipo SWIM (ZSWIM)	SEQ ID NO: 44	C-x-C-x-C-x-H	MAP3K1, ZSWIM5, ZSWIM6
Dedos de zinc tipo AN1 (ZFAND)	SEQ ID NO: 49	C-x-C-x-C-x-C-xxx-C-x-H-x-H-x-C	ZFAND3, ZFAND6, IGHMBP2
Dedos de zinc tipo 3CxxC (Z3CXXC)	SEQ ID NO: 45	C-x-C-x-H-x-C	ZAR1, RTP1, RTP4
Dedos de zinc tipo CW (ZCW)	SEQ ID NO: 48	C-x-C-x-C-x-C	MORC1, ZCWPW1, KDM1B
Dedos de zinc tipo GRF (ZGRF)	SEQ ID NO: 48	C-x-C-x-C-x-C	TTF2, NEIL3, TOP3A
Dedos de zinc tipo MIZ (ZMIZ)	SEQ ID NO: 45	C-x-C-x-H-x-C	PIAS1, PIAS3, PIAS4
Dedos de zinc tipo BED (ZBED)	SEQ ID NO: 39	C-x-C-x-H-x-H	ZBED1, ZBED4, ZBED6
Dedos de zinc tipo HIT (ZNHIT)	SEQ ID NO: 47	C-x-C-x-C-x-C-xxx-C-x-C-x-H-x-C	ZNHIT3, DDX59, INO80B
Dedos de zinc tipo MYM (ZMYM)	SEQ ID NO: 48	C-x-C-x-C-x-C	ZMYM2, ZMYM3, ZMYM4
Dedos de zinc tipo matrin (ZMAT)	SEQ ID NO: 39	C-x-C-x-H-x-H	ZNF638, ZMAT1, ZMAT3, ZMAT5
Dedos de zinc tipo C2H2C	SEQ ID NO: 39	C-x-C-x-H-x-H	MYT1, MYT1L, ST18

Dedos de zinc tipo DBFe (ZDBF)	SEQ ID NO: 39	C-x-C-x-H-x-H	DBF4, DBF4B, ZDBF2
Dedos de zinc tipo PARP	SEQ ID NO: 45	C-x-C-x-H-x-C	LIG3, PARP1

Tabla 6: Ejemplos de secuencias de aminoácidos de longitud completa de eTF

	Secuencia de aminoácidos (extremo N- a C-terminal)
SEQ ID NO: 50	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYA
SEQ ID NO: 51	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDF DLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 52	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEMSGLEM ADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHY GAGNMNATSGIRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQ LQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGG SSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLM SLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC	
SEQ ID NO: 53	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEMADHLM

	LAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALA YGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAA APPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAP PAGSVSC
SEQ ID NO: 54	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRR DELNVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSS NLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGN LVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSG LRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRA AAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVREL PELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 55	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKP FQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDR PYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGE KPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDKLEMSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNG LHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGIRHAMGPG TVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNH YMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSS NSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELW LGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC
SEQ ID NO: 56	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALM GEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGS LPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSST PGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFI DEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSCQSQLIKPSRM RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFS SRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDR RFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRK FAHRTTLTNHTKIHLRQKDK

SEQ ID NO: 57	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKP FQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDR PYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGE KPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKLEMSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNG LHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGIRHAMGPG TVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNH YMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSS NSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELW LGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC
SEQ ID NO: 58	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALM GEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGS LPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSST PGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFI DEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSCQSQLIKPSRM RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFS REDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDR RFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRK FAQNSTLTEHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 59	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKP FQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDR PYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGE KPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDKLEMSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNG LHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGXRHAMGPG TVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNH YMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSS NSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELW LGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC (en donde X puede ser I o V)
SEQ ID NO: 60	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALM GEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGS LPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSST PGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFI

	DEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSCQSQLIKPSRM RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFS SRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDR RFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRK FAHRTTLTNHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 61	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKP FQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDR PYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGE KPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAH GPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPP PAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELID EEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 62	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCD RRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGR KFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKLEMAD HLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPG ALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAP SAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLG SAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 63	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKP FQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDR PYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGE KPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAH GPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPP PAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELID EEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 64	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP

	QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCD RRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGR KFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDKLEMAD HLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPG ALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAP SAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLG SAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 65	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKP FQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDR PYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGE KPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAH GPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPP PAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELID EEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 66	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCD RRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGR KFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDKLEMAD HLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPG ALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAP SAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLG SAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 67	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCD RRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGR

	KFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKLEMAD HLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPG ALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAP SAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLG SAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 68	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCD RRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGR KFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 69	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCD RRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGR KFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 70	MRPHACPAEGCDRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHT GEKPFACEFCGRKFARSDELVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQSGNLTEHLRIH TGHKPFQCRICMRSFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQNSTLTEHAKIHL KQKEKKAEKGGAPSASSAPPVSLAPVVTTCALEMSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNG LHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGIRHAMGPG TVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNH YMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSS NSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELW LGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC
SEQ ID NO: 71	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALM GEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGS LPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSST PGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFI

	DEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSCRPHACPAEGC DRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCG RKFARSDELVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQSGNLTEHLRIHTGHKPFQCRIC MRSFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQNSTLTEHAKIHLKQKEKKAEKGG APSASSAPPVSLAPVVTTCA
SEQ ID NO: 72	MRPHACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHT GEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIH TGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHL KQKEKKAEKGGAPSASSAPPVSLAPVVTTCALEMSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNG LHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGXRHAMGPG TVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNH YMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSS NSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELW LGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC (en donde X puede ser I o V)
SEQ ID NO: 73	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALM GEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGS LPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSST PGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFI DEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSCRPHACPAEGC DRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCG RKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRIC MRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKEKKAEKGG APSASSAPPVSLAPVVTTCA
SEQ ID NO: 74	MRPHACPAEGCDRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHT GEKPFACEFCGRKFARSDELVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQSGNLTEHLRIH TGHKPFQCRICMRSFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQNSTLTEHAKIHL KQKEKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAP LGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAP GGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQ SEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP

NO: 75	RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGRPHACPAEGCDRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQC RICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDELVRHAKIHLKQKEHACP AEGCDRRFSQSGNLTEHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFAC EFCGRKFAQNSTLTEHAKIHLKQKEKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHAL RTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGI AHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALT SLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 76	MRPHACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHT GEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIH TGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHL KQKEKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAP LGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAP GGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQ SEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 77	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGRPHACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQC RICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACP AEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFAC EFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKEKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHAL RTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGI AHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALT SLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 78	MRPHACPAEGCDRRFSRRDELNVHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSSRRTCRAHIRTHT GEKPFACEFCGRKFAQSSNLVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQLAHLRAHLRIH TGHKPFQCRICMRSFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAHRTTLTNHAKIHL KQKEKLEMSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQ HAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGIRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPP VASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPK HSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPN

	VIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC
SEQ ID NO: 79	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPP RQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGP QPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCF SDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGRPHACPAEGCDRRFSRRDELNVHLRIHTGHKPFQC RICMRSFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQSSNLVRHAKIHLKQKEHACP AEGCDRRFSQLAHLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFAC EFCGRKFAHRTTLTNHAKIHLKQKEKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHAL RTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGI AHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALT SLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 80	MRPHACPAEGCDRRFSRRDELNVHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSSRRTCRAHIRTHT GEKPFACEFCGRKFAQSSNLVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQLAHLRAHLRIH TGHKPFQCRICMRSFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAHRTTLTNHAKIHL KQKEKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAP LGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAP GGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQ SEFDCFSDLGSAPPAGSVSC
SEQ ID NO: 268	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSDPGHLVRHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSTKNSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSERSHLREHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSKKHLAEHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGKKTSKRPAATK KAG
SEQ ID NO: 269	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSTTGALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGDLRRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSTSHSLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG
SEQ ID NO: 270	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRKDNLKNHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSRKDNLKNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG
SEQ ID NO:	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPEC

271	GKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDF DLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 272	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGEKPYKCPECGK SFSQNSTLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDFD LDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 273	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSTSGHLVRHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG
SEQ ID NO: 274	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSQSGNLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG
SEQ ID NO: 275	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSDCRDLARHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSQRAHLERHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECGK SFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG
SEQ ID NO: 276	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGNLVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSQRAHLERHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG
SEQ ID NO: 277	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSTKNSLTEHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSRADNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTKNSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSTHLDLIRHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG
SEQ ID NO: 278	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSDPGHLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKCPECG

	KSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDHLTNHQRTHTGKKTSKRPAATK KAG
SEQ ID NO: 279	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSHRTTLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSREDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDF DLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 280	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGDLRRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDF DLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 281	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQKSSLIAHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSQAGHLASHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG
SEQ ID NO: 282	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSTTGNLTVHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSQRANLRAHQRTHTGKKTSKRPAATKKAG

Tabla 7: Secuencias de DBD de los eTF descritos en la Tabla 6

eTF SEQ ID NO:	**DBD SEQ ID NO:**	**Secuencia de DBD**	**Plata-forma de pro-teína para DBD**	**Identidad de secuencia NCBI-BLAST entre DBD y plata-forma de proteína**
SEQ ID NO: 50	SEQ ID NO: 81	LEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKPYK CPECGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS QSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTS	Sinté-tica	67%
SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 81	(misma como antes)	Sinté-tica	67%

SEQ ID NO: 52	SEQ ID NO: 81	(misma como antes)	Sinté-tica	67%
SEQ ID NO: 53	SEQ ID NO: 81	(misma como antes)	Sinté-tica	67%
SEQ ID NO: 54	SEQ ID NO: 81	(misma como antes)	Sintética	67%
SEQ ID NO: 55	SEQ ID NO: 82	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDK	EGR1	86%
SEQ ID NO: 56	SEQ ID NO: 83	QSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDK	EGR1	86%
SEQ ID NO: 57	SEQ ID NO: 84	RPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKD	EGR1	93%
SEQ ID NO: 58	SEQ ID NO: 85	QSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDK	EGR1	93%
SEQ ID NO: 59	SEQ ID NO: 86	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDK	EGR1	84%
SEQ ID NO: 60	SEQ ID NO: 87	RPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDK*	EGR1	84%
SEQ ID NO: 61	SEQ ID NO: 88	RPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDK	EGR1	93%

SEQ ID NO: 62	SEQ ID NO: 88	(misma como antes)	EGR1	93%
SEQ ID NO: 63	SEQ ID NO: 89	RPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDK	EGR1	84%
SEQ ID NO: 64	SEQ ID NO: 89	(misma como antes)	EGR1	84%
SEQ ID NO: 65	SEQ ID NO: 82	(misma como antes)	EGR1	86%
SEQ ID NO: 66	SEQ ID NO: 82	(misma como antes)	EGR1	86%
SEQ ID NO: 67	SEQ ID NO: 90	QSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDK	EGR1	79%
SEQ ID NO: 68	SEQ ID NO: 90	(misma como antes)	EGR1	79%
SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 91	QSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDK	EGR1	81%
SEQ ID NO: 70	SEQ ID NO: 92	HACPAEGCDRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDELVRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQSGNLTEHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQNSTLTEHAKIHLKQKE	EGR3	92%
SEQ ID NO: 71	SEQ ID NO: 92	(misma como antes)	EGR3	92%
SEQ ID NO: 72	SEQ ID NO: 93	HACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKE	EGR3	80%

SEQ ID NO: 73	SEQ ID NO: 93	(misma como antes)	EGR3	80%
SEQ ID NO: 74	SEQ ID NO: 92	(misma como antes)	EGR3	92%
SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 92	(misma como antes)	EGR3	92%
SEQ ID NO: 76	SEQ ID NO: 93	(misma como antes)	EGR3	80%
SEQ ID NO: 77	SEQ ID NO: 93	(misma como antes)	EGR3	80%
SEQ ID NO: 78	SEQ ID NO: 94	HACPAEGCDRRFSRRDELNVHLRIHTGHKPFQCRICM RSFSSRRTCRAHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQSSNL VRHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQLAHLRAHLRIH TGHKPFQCRICMRSFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFACE FCGRKFAHRTTLTNHAKIHLKQKE	EGR3	45%
SEQ ID NO: 79	SEQ ID NO: 94	(misma como antes)	EGR3	45%
SEQ ID NO: 80	SEQ ID NO: 94	(misma como antes)	EGR3	45%

Tabla 8: Secuencias de aminoácidos de los TAD de ejemplo que se pueden fusionar a cualquier DBD de un eTF descrito en la presente

TAD SEQ ID NO.	**Secuencia de TAD (extremo N- a C-terminal)**	**Plataforma de proteínas de TAD**
SEQ ID NO: 95	DALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFD LDML	VP64 (un dominio de activador viral)

SEQ ID NO: 114	DALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLINSRSSGSPKKKRKVGSQYLPDTDDRHRIEEKRKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIAVPSRSSASVPKPAPQPYPFTSSLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAPAPPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQAPAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLSEALLQLQFDDEDLGALLGNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQRPPDPAPAPLGAPGLPNGLLSGDEDFSSIADMDFSALLGSGSGSRDSREGMFLPKPEAGSAISDVFEGREVCQPKRIRPFHPPGSPWANRPLPASLAPTPTGPVHEPVGSLTPAPVPQPLDPAPAVTPEASHLLEDPDEETSQAVKALREMADTVIPQKEEAAICGQMDLSHPPPRGHLDELTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDTFLNDECLLHAMHISTGLSIFDTSLF	VPR (un dominio de activador viral)
SEQ ID NO: 96	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC	CITED2 (dominio de protína humana)
SEQ ID NO: 97	MADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC	CITED4 (dominio de protína humana)
SEQ ID NO: 98	SGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC	CITED2 (dominio de protína humana)
SEQ ID NO: 99	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC	CITED2 (dominio de protína humana)

SEQ ID NO: 100	AADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRP RGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPV ATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELID EEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC	CITED4 (dominio de protína humana)

Tabla 9: Por ciento de identidad de secuencia entre TAD y plataforma de proteínas

eTF SEQ ID NO:	DBD SEQ ID NO:	TAD SEQ ID NO:	Plataforma de proteína para TAD	Posición de TAD con respecto a DBD	Identidad de secuencia NCBI-BLAST (%) de TAD a plataforma de proteína
SEQ ID NO: 50	SEQ ID NO: 81	N/A	N/A	N/A	N/A
SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 81	SEQ ID NO: 95	VP64	C-term	0
SEQ ID NO: 52	SEQ ID NO: 81	SEQ ID NO: 96	CITED2	c-term	100
SEQ ID NO: 53	SEQ ID NO: 81	SEQ ID NO: 97	CITED4	c-term	100
SEQ ID NO: 54	SEQ ID NO: 81	SEQ ID NO: 97	CITED4	N/C-term	100
SEQ ID NO: 55	SEQ ID NO: 82	SEQ ID NO: 96	CITED2	c-term	100
SEQ ID NO: 56	SEQ ID NO: 83	SEQ ID NO: 98	CITED2	n-term	100
SEQ ID NO: 57	SEQ ID NO: 84	SEQ ID NO: 96	CITED2	c-term	100
SEQ ID NO: 58	SEQ ID NO: 85	SEQ ID NO: 99	CITED2	n-term	100
SEQ ID NO: 59	SEQ ID NO: 86	SEQ ID NO: 96	CITED2	c-term	100
SEQ ID NO: 60	SEQ ID NO: 87	SEQ ID NO: 99	CITED2	n-term	100

SEQ ID NO: 61	SEQ ID NO: 88	SEQ ID NO: 97	CITED4	c-term	100
SEQ ID NO: 62	SEQ ID NO: 88	SEQ ID NO: 97	CITED4	n/c-term	100
SEQ ID NO: 63	SEQ ID NO: 89	SEQ ID NO: 97	CITED4	c-term	100
SEQ ID NO: 64	SEQ ID NO: 89	SEQ ID NO: 97	CITED4	n/C-term	100
SEQ ID NO: 65	SEQ ID NO: 82	SEQ ID NO: 97	CITED4	C-term	100
SEQ ID NO: 66	SEQ ID NO: 82	SEQ ID NO: 97	CITED4	N/C-term	100
SEQ ID NO: 67	SEQ ID NO: 90	SEQ ID NO: 100	CITED4	N/C-term	100
SEQ ID NO: 68	SEQ ID NO: 90	SEQ ID NO: 100	CITED4	N-term	100
SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 91	SEQ ID NO: 100	CITED4	N-term	100
SEQ ID NO: 70	SEQ ID NO: 92	SEQ ID NO: 96	CITED2	c-term	100
SEQ ID NO: 71	SEQ ID NO: 92	SEQ ID NO: 99	CITED2	n-term	100
SEQ ID NO: 72	SEQ ID NO: 93	SEQ ID NO: 6	CITED2	c-term	100
SEQ ID NO: 73	SEQ ID NO: 93	SEQ ID NO: 99	CITED2	n-term	100
SEQ ID NO: 74	SEQ ID NO: 92	SEQ ID NO: 97	CITED4	c-term	100
SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 92	SEQ ID NO: 97	CITED4	n/c-term	100
SEQ ID NO: 76	SEQ ID NO: 93	SEQ ID NO: 97	CITED4	c-term	100
SEQ ID NO: 77	SEQ ID NO: 93	SEQ ID NO: 97	CITED4	n/c-term	100
SEQ ID NO: 78	SEQ ID NO: 94	SEQ ID NO: 96	CITED2	C-term	100

SEQ ID NO: 79	SEQ ID NO: 94	SEQ ID NO: 97	CITED4	N/C-term	100
SEQ ID NO: 80	SEQ ID NO: 94	SEQ ID NO: 97	CITED4	C-term	100

Tabla 10: Ejemplos de los eTF y sus secuencias de sitio diana

eTF	Sitio diana reconocido por eTF	Secuencia de sitio diana (5’ a 3’)	Diana génica
SEQ ID NO: 50	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 52	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 53	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 54	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 55	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 56	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 57	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 58	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 59	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	PGRN
SEQ ID NO: 60	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	PGRN
SEQ ID NO: 61	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 62	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 63	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	PGRN
SEQ ID NO: 64	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	PGRN
SEQ ID NO: 65	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 66	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 67	SEQ ID NO: 36	TAGGTACCATAGAGTGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 68	SEQ ID NO: 36	TAGGTACCATAGAGTGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 70	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 71	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 72	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	PGRN
SEQ ID NO: 73	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	PGRN
SEQ ID NO: 74	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A
SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 35	CTAGGTCAAGTGTAGGAG	SCN1A

SEQ ID NO: 76	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	PGRN
SEQ ID NO: 77	SEQ ID NO: 38	GAGTAGAAAAGAAACACA	PGRN
SEQ ID NO: 78	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 79	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador
SEQ ID NO: 80	SEQ ID NO: 33	AGT GAT AGA GAA CGT ATG	Indicador

Tabla 11: Ejemplo de una secuencia de proteína dSaCas9 y ARN guía para tomar como diana un sitio diana capaz de favorecer la expresión del gen SCN1A endógeno

andamio dCas	
SEQ ID NO: 102	GTTTTAGTACTCTGGAAACAGAATCTACTAAAACAAGGCAAAATGCCGTGTTTATCTCGTCAACTTGTTGGCGAGA
secuencia de aminoácidos de dSaCas9	
SEQ ID NO: 103	KRNYILGLAIGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGARRLKRRRRHRIQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEEEFSAALLHLAKRRGVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKKDGEVRGSINRFKTSDYVKEAKQLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVITRDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNLKVYHDIKDITARKEIIENAELLDQIAKILTIYQSSEDIQEELTNLNSELTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQIAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIIELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQTNERIEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSLEAIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEEASKKGNRTPFQYLSSSDSKISYETFKKHILNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRGLMNLLRSYFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANADFIFKEWKKLDKAKKVMENQMFEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIKHIKDFKDYKYSHRVDKKPNRELINDTLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLINKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKLIMEQYGDEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGNKLNAHLDITDDYPNSRNKVVKLSLKPYRFDVYLDNGVYKFVTVKNLDVIKKENYYEVNSKCYEEAKKLKKISNQAEFIASFYNNDLIKINGELYRVIGVNNDLL

	NRIEVNMIDITYREYLENMNDKRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDILGNLYEV KSKKHPQIIKKG
SEQ ID NO: 104 (o SEQ ID NO: 103 con etiqueta HA y NLS)	MAPKKKRKVGIHGVPAAKRNYILGLAIGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLF KEANVENNEGRRSKRGARRLKRRRRHRIQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINP YEARVKGLSQKLSEEEFSAALLHLAKRRGVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISR NSKALEEKYVAELQLERLKKDGEVRGSINRFKTSDYVKEAKQLLKVQKAYHQ LDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYFPEEL RSVKYAYNADLYNALNDLNNLVITRDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTL KQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNLKVYHDIKDITARKEIIENAELL DQIAKILTIYQSSEDIQEELTNLNSELTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAI NLILDELWHTNDNQIAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPVVKR SFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIIELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQTNER IEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSLEAIPLEDLLNNPFNYEVD HIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEEASKKGNRTPFQYLSSSDSKISYETFKKHI LNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRGLMNLL RSYFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANAD FIFKEWKKLDKAKKVMENQMFEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIKHIK DFKDYKYSHRVDKKPNRELINDTLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKL KKLINKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKLIMEQYGDEKNPLYKYYEETGNYLTKY SKKDNGPVIKKIKYYGNKLNAHLDITDDYPNSRNKVVKLSLKPYRFDVYLDN GVYKFVTVKNLDVIKKENYYEVNSKCYEEAKKLKKISNQAEFIASFYNNDLI KINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMIDITYREYLENMNDKRPPRIIKTIASKT QSIKKYSTDILGNLYEVKSKKHPQIIKKGKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDV PDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFD LDML
Secuencias de ARN guía SaCas9 (ARNg)	
SEQ ID NO: 105	tgacctagacagccttacata
SEQ ID NO: 106	taaggctgtctaggtcaagtg
SEQ ID NO: 107	aaggctgtctaggtcaagtgt
SEQ ID NO:	GATGAAGCCGAGAGGATACTG

108	
SEQ ID NO: 109	GCTGATTTGTATTAGGTACCA
Secuencias de ARN guía SpCas9 (ARNg)	
SEQ ID NO: 110	cttcgttatgtaaggctgtct
SEQ ID NO: 107	aaggctgtctaggtcaagtgt
SEQ ID NO: 111	caagtgtaggagacacactgc

Tabla 12: Ejemplos de dedos de zinc que se pueden combinar en los eTF para modular gen SCN1A

	Secuencia		**Secuencia**
SEQ ID NO: 115	RSDNLVR	SEQ ID NO: 123	QSGDLRR
SEQ ID NO: 116	REDNLHT	SEQ ID NO: 124	TSHSLTE
SEQ ID NO: 117	RSDELVR	SEQ ID NO: 125	THLDLIR
SEQ ID NO: 118	QSGNLTE	SEQ ID NO: 126	QSSSLVR
SEQ ID NO: 119	TSGHLVR	SEQ ID NO: 127	TSGNLVR
SEQ ID NO: 120	QNSTLTE	SEQ ID NO: 128	RRDELNV
SEQ ID NO: 121	DPGALVR	SEQ ID NO: 129	RSDDLVR
SEQ ID NO: 122	HRTTLTN	SEQ ID NO: 130	RSDHLTN

Tabla 13: Ejemplos de los DBD de los eTF para modular SCN1A

	Secuencia de aminoácidos de los DBD (incluyendo ligadores)
SEQ ID NO: 131	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDN LHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 132	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTT LTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKC

	PECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 133	LEPGEKPYKCPECGKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDN LVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGDLRRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 134	LEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDH LTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDDLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTH QRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 135	RSDNLVR x REDNLHT x RSDELVR x QSGNLTE x TSGHLVR x QNSTLTE (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO: 371	RSDNLVR x HRTTLTN x REDNLHT x TSHSLTE x QSSSLVR x REDNLHT (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO: 372	RRDELNV x RSDHLTN x RSDDLVR x RSDNLVR x HRTTLTN x REDNLHT x TSHSLTE x QSSSLVR x REDNLHT (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO: 376	DPGALVR x RSDNLVR x QSGDLRR x THLDLIR x TSGNLVR x RSDNLVR (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO: 423	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDN LHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS

	FSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 424	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDN LHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 425	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDN LHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 426	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTT LTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 427	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQ KDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHL VRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVV
SEQ ID NO: 428	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQ KDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHL VRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVV
SEQ ID NO: 429	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQ KDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHL VRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 430	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQ KDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHL VRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 431	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHIRTHTGE KPFACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHI

	RTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVV
SEQ ID NO: 432	QSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRI HTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNL HTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRIC MRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKD K
SEQ ID NO: 433	QSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRI HTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNL HTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRIC MRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIH
SEQ ID NO: 434	QSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRI HTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNL HTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRIC MRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKD K
SEQ ID NO: 435	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHIRTHTGE KPFACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHI RTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVV
SEQ ID NO: 441	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHIRTHTGE KPFACDICGRKFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHI RTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVV
SEQ ID NO: 406	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQ KDRPYACPVESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSL VRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVV
SEQ ID NO: 407	AAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGA AGAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLT AESFPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWP EPLFSLVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSP IYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPM IPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGS

	QDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSR SDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDIC GRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHT GQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTE HTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPAT TSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSF PSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 408	RPYACPVESCDRRFSDPGALVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSRSDNLVR HIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSGDLRRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDR RFSTHLDLIRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRTHTGEKPFA CDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGHLTEHI RIHTGQKPFQCRICMRNFSERSHLREHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQAG HLASHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 409	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCR ICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHIRTHTGE KPFACDICGRKFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHI RTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVV
SEQ ID NO: 391	LEPGEKPYKCPECGKSFSDPGHLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTKNS LTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSERSHLREHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSKKHLAEHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTG KKTS
SEQ ID NO: 392	LEPGEKPYKCPECGKSFSSRRTCRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTTGA LTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGDLRRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 393	LEPGEKPYKCPECGKSFSRKDNLKNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGA LVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSRKDNLKNHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 394	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDN LHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGEKPYKC

	PECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 395	LEPGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSPAD LTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 396	LEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDN LVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 397	LEPGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSPAD LTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 398	LEPGEKPYKCPECGKSFSDCRDLARHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRNDA LTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGNLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQRAHLERHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 399	LEPGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSPAD LTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSQRAHLERHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 400	LEPGEKPYKCPECGKSFSTKNSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRADN LTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTKNSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSTHLDLIRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 401	LEPGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGH LVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDHLTNHQRTHTG KKTS
SEQ ID NO:	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTT

402	LTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 403	LEPGEKPYKCPECGKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDN LVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGDLRRHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 404	LEPGEKPYKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDN LHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQKSSLIAHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQAGHLASHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 405	LEPGEKPYKCPECGKSFSTTGNLTVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGE LVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSTSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKC PECGKSFSQRANLRAHQRTHTGKKTS

Tabla 14: Ejemplos de dominios de unión a ADN que comprenden múltiples dedos de zinc que modulan SCN1A

Número de los ZF en DBD	DBD que comprende los siguientes ZF (extremo N- a-C-terminal):	Secuencias de ZF:	DBD SEQ ID NO.
6	SEQ ID NO: 115 SEQ ID NO: 116 SQE ID NO: 117 SEQ ID NO: 118 SEQ ID NO: 119 SEQ ID NO: 120	RSDNLVR; REDNLHT; RSDELVR; QSGNLTE; TSGHLVR; QNSTLTE	SEQ ID NO: 131
6	SEQ ID NO: 115 SEQ ID NO: 122 SEQ ID NO: 116 SEQ ID NO: 124	RSDNLVR; HRTTLTN; REDNLHT; TSHSLTE;	SEQ ID NO: 132

	SEQ ID NO: 126 SEQ ID NO: 116	QSSSLVR; REDNLHT	
6	SEQ ID NO: 121 SEQ ID NO: 115 SEQ ID NO: 123 SEQ ID NO: 125 SEQ ID NO: 127 SEQ ID NO: 115	DPGALVR; RSDNLVR; QSGDLRR; THLDLIR; TSGNLVR; RSDNLVR	SEQ ID NO: 133
9	SEQ ID NO: 128 SEQ ID NO: 130 SEQ ID NO: 129 SEQ ID NO: 115 SEQ ID NO: 122 SEQ ID NO: 116 SEQ ID NO: 124 SEQ ID NO: 126 SEQ ID NO: 116	RRDELNV; RSDHLTN; RSDDLVR; RSDNLVR; HRTTLTN; REDNLHT; TSHSLTE; QSSSLVR; REDNLHT	SEQ ID NO: 134

Tabla 15: Ejemplos de secuencias de sitio diana para modular SCN1A

Secuencia diana SEQ ID NO.	Reconocida por ZF o ARNg	Secuencias de sitio diana SCN1A reconocidas por un eTF
SEQ ID NO: 35	ZF	CTAGGTCAAGTGTAGGAG
SEQ ID NO: 36	ZF	TAGGTACCATAGAGTGAG
SEQ ID NO: 37	ZF	TAGGTACCATAGAGTGAGGCGAGGATG
SEQ ID NO: 136	ZF	GAGGATACTGCAGAGGTC
SEQ ID NO: 252	ZF	CAAACTCCCAGCCTGCCTGGC

SEQ ID NO: 253	ZF	CCAGCACTGGTGCTTCGT
SEQ ID NO: 254	ZF	AAGGCTGTCTAGGTCAAG
SEQ ID NO: 256	ZF	CTAGGTCAAGTGTAGGAGACACAC
SEQ ID NO: 257	ZF	GGTCAAGTGTAGGAGACA
SEQ ID NO: 258	ZF	CAAGTGTAGGAGACACAC
SEQ ID NO: 259	ZF	AGTGTAGGAGACACACTGCTGGCC
SEQ ID NO: 260	ZF	AGTGTAGGAGACACACTG
SEQ ID NO: 261	ZF	ACTTGACCTAGACAGCCT
SEQ ID NO: 262	ZF	AGGAGACACACTGCTGGCCTG
SEQ ID NO: 264	ZF	TGAATAACTCATTAGTGA
SEQ ID NO: 265	ZF	AAAGTACATTAGGCTAAT
SEQ ID NO: 105	ARNg	TGACCTAGACAGCCTTACATA
SEQ ID NO: 106	ARNg	TAAGGCTGTCTAGGTCAAGTG
SEQ ID NO: 108	ARNg	GATGAAGCCGAGAGGATACTG
SEQ ID NO: 109	ARNg	GCTGATTTGTATTAGGTACCA
SEQ ID NO: 110	ARNg	CTTCGTTATGTAAGGCTGTCT

SEQ ID NO: 107	ARNg	AAGGCTGTCTAGGTCAAGTGT
SEQ ID NO: 111	ARNg	CAAGTGTAGGAGACACACTGC
SEQ ID NO: 195	ARNg	CACTCATTGAGGACAGAAGCA
SEQ ID NO: 196	ARNg	ACAAAGTGGAGAGACTACCCG
SEQ ID NO: 197	ARNg	GGTACGGGCAAAGATTTCTTG
SEQ ID NO: 198	ARNg	TTTGCCCGTACCAAAGTCTTG
SEQ ID NO: 199	ARNg	TCTTCAGCCACAAAAAAAAAA
SEQ ID NO: 200	ARNg	GTGTGCAACCCATGAGGTCGC
SEQ ID NO: 201	ARNg	ACACAATGAGCCACCTACAAG
SEQ ID NO: 202	ARNg	GTGGCTCATTGTGTGTGTGCC
SEQ ID NO: 203	ARNg	AGAAAGCTGATACAGATACAA
SEQ ID NO: 205	ARNg	AAACCAGCAACAAACAGTATA
SEQ ID NO: 206	ARNg	GAGAATCATCTAGGTCAGGAC
SEQ ID NO: 207	ARNg	TTCTCAGTTTTGAAATTAAAA
SEQ ID NO: 208	ARNg	CATATCCCTGCAGGTTCAGAA
SEQ ID NO: 209	ARNg	TGGATTCTCTTCTGAACCTGC

SEQ ID NO: 210	ARNg	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA
SEQ ID NO: 211	ARNg	TGGTCTCATTCTTTTTGTGGG
SEQ ID NO: 224	ARNg	TGTTCCTCCAGATTAACACTT
SEQ ID NO: 225	ARNg	ATTACAGTTCTGTCAGCATGC
SEQ ID NO: 226	ARNg	ATCATCTGTAACCATCAAGGA
SEQ ID NO: 227	ARNg	TCCTGCCTACTTAGTTTCAAG
SEQ ID NO: 228	ARNg	TGCTGAGGCAGGACACAGTGT
SEQ ID NO: 229	ARNg	ACAAAGTAAGTGTCAGTGTGG
SEQ ID NO: 230	ARNg	CTGACACTTACTTTGTCTAAA
SEQ ID NO: 231	ARNg	ATAATAGTTGTGTCTTTATAA
SEQ ID NO: 232	ARNg	CGATATTTTCATGGATTCCTT
SEQ ID NO: 233	ARNg	AAAACTGGAACCGCATTCCCA
SEQ ID NO: 234	ARNg	TGTACAAGCAGGGCTGCAAAG
SEQ ID NO: 235	ARNg	AAAGGGGAATGGGAACACCCG
SEQ ID NO: 236	ARNg	ATGTTCAAGGTGCAGAAGGAA
SEQ ID NO: 237	ARNg	TTCAACAAGCTCCCAAGAAGT

SEQ ID NO: 238	ARNg	GTTAACAAATACACTAAACAC
SEQ ID NO: 240	ARNg	AAAACCGTCAACCCCATACAG
SEQ ID NO: 241	ARNg	AGGAATCACTTGTCAGACCTA
SEQ ID NO: 242	ARNg	GAGACTGTGCGTATAAAGGCA
SEQ ID NO: 243	ARNg	TACTGATACAGGAACTGTGCC
SEQ ID NO: 244	ARNg	CTTGTCATGAAACATGAGCTA
SEQ ID NO: 245	ARNg	TATCTGTATTCCTTTTATTTT
SEQ ID NO: 246	ARNg	ATAAATGGTAATTAAAATGTG
SEQ ID NO: 247	ARNg	TGTTTGCTCAAACGTGCACCA
SEQ ID NO: 248	ARNg	AAATATGTACCACAAGAAATG
SEQ ID NO: 249	ARNg	TATCTGGTTTCTCTCACTGCT
SEQ ID NO: 250	ARNg	AAATAAGACATGAAAACAAGA
SEQ ID NO: 251	ARNg	ATTGCAAAGCATAATTTGGAT

Tabla 16: Secuencias de ácidos nucleicos de los eTF de ejemplo descritos en la presente que pueden favorecer la expresión de SCN1A

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
SEQ ID NO: 305	SEQ ID NO: 353	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttcccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCG GTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCCTCGAACCAGGTGAAAAACCTTACAAAT GTCCTGAATGTGGGAAATCATTCAGTCGCAGCGACAACCTGGTGAGACATC AACGCACCCATACAGGAGAAAAACCTTATAAATGTCCAGAATGTGGAAAGT CCTTCTCACGAGAGGATAACTTGCACACTCATCAACGAACACATACTGGTG AAAAACCATACAAGTGTCCCGAATGTGGTAAAAGTTTTAGCCGGAGCGATG AACTTGTCCGACACCAACGAACCCATACAGGCGAGAAGCCTTACAAATGTC CCGAGTGTGGCAAGAGCTTCTCACAATCAGGGAATCTGACTGAGCATCAAC GAACTCATACCGGGGAAAAACCTTACAAGTGTCCAGAGTGTGGGAAGAGCT TTTCCACAAGTGGACATCTGGTACGCCACCAGAGGACACATACAGGGGAGA AGCCCTACAAATGCCCCGAATGCGGTAAAAGTTTCTCTCAGAATAGTACCC TGACCGAACACCAGCGAACACACACTGGGAAAAAAACGAGTAAAAGGCCGG CGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCAT ACGACGTACCAGATTACGCTCTCGAGGAGGCCAGCGGTTCCGGACGGGCTG ACGCATTGGACGATTTTGATCTGGATATGCTGGGAAGTGACGCCCTCGATG ATTTTGACCTTGACATGCTTGGTTCGGATGCCCTTGATGACTTTGACCTCG ACATGCTCGGCAGTGACGCCCTTGATGATTTCGACCTGGACATGCTGATTA ACTCTAGAAGTTCCGGATCTCCGAAAAAGAAACGCAAAGTTGGTAGCCAGT ACCTGCCCGACACCGACGACCGGCACCGGATCGAGGAAAAGCGGAAGCGGA CCTACGAGACATTCAAGAGCATCATGAAGAAGTCCCCCTTCAGCGGCCCCA

25

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		CCGACCCTAGACCTCCACCTAGAAGAATCGCCGTGCCCAGCAGATCCAGCG CCAGCGTGCCAAAACCTGCCCCCCAGCCTTACCCCTTCACCAGCAGCCTGA GCACCATCAACTACGACGAGTTCCCTACCATGGTGTTCCCCAGCGGCCAGA TCTCTCAGGCCTCTGCTCTGGCTCCAGCCCCTCCTCAGGTGCTGCCTCAGG CTCCTGCTCCTGCACCAGCTCCAGCCATGGTGTCTGCACTGGCTCAGGCAC CAGCACCCGTGCCTGTGCTGGCTCCTGGACCTCCACAGGCTGTGGCTCCAC CAGCCCCTAAACCTACACAGGCCGGCGAGGGCACACTGTCTGAAGCTCTGC TGCAGCTGCAGTTCGACGACGAGGATCTGGGAGCCCTGCTGGGAAACAGCA CCGATCCTGCCGTGTTCACCGACCTGGCCAGCGTGGACAACAGCGAGTTCC AGCAGCTGCTGAACCAGGGCATCCCTGTGGCCCCTCACACCACCGAGCCCA TGCTGATGGAATACCCCGAGGCCATCACCCGGCTCGTGACAGGCGCTCAGA GGCCTCCTGATCCAGCTCCTGCCCCTCTGGGAGCACCAGGCCTGCCTAATG GACTGCTGTCTGGCGACGAGGACTTCAGCTCTATCGCCGATATGGATTTCT CAGCCTTGCTGGGCTCTGGCAGCGGCAGCCGGGATTCCAGGGAAGGGATGT TTTTGCCGAAGCCTGAGGCCGGCTCCGCTATTAGTGACGTGTTTGAGGGCC GCGAGGTGTGCCAGCCAAAACGAATCCGGCCATTTCATCCTCCAGGAAGTC CATGGGCCAACCGCCCACTCCCCGCCAGCCTCGCACCAACACCAACCGGTC CAGTACATGAGCCAGTCGGGTCACTGACCCCGGCACCAGTCCCTCAGCCAC TGGATCCAGCGCCCGCAGTGACTCCCGAGGCCAGTCACCTGTTGGAGGATC CCGATGAAGAGACGAGCCAGGCTGTCAAAGCCCTTCGGGAGATGGCCGATA CTGTGATTCCCCAGAAGGAAGAGGCTGCAATCTGTGGCCAAATGGACCTTT CCCATCCGCCCCCAAGGGGCCATCTGGATGAGCTGACAACCACACTTGAGT CCATGACCGAGGATCTGAACCTGGACTCACCCCTGACCCCGGAATTGAACG AGATTCTGGATACCTTCCTGAACGACGAGTGCCTCTTGCATGCCATGCATA TCAGCACAGGACTGTCCATCTTCGACACATCTCTGTTTTAAACTAGTaata aaagatctttattttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtg
SEQ ID NO: 306	SEQ ID NO: 354	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtattttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttttccccctctcaccttg

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg
		aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc
		cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag
		ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt
		gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc
		ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga
		cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCG
		GTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCCTCGAACCAGGTGAAAAACCTTACAAAT
		GTCCTGAATGTGGGAAATCATTCAGTCGCAGCGACAACCTGGTGAGACATC
		AACGCACCCATACAGGAGAAAAACCTTATAAATGTCCAGAATGTGGAAAGT
		CCTTCTCACGAGAGGATAACTTGCACACTCATCAACGAACACATACTGGTG
		AAAAACCATACAAGTGTCCCGAATGTGGTAAAAGTTTTAGCCGGAGCGATG
		AACTTGTCCGACACCAACGAACCCATACAGGCGAGAAGCCTTACAAATGTC
		CCGAGTGTGGCAAGAGCTTCTCACAATCAGGGAATCTGACTGAGCATCAAC
		GAACTCATACCGGGGAAAAACCTTACAAGTGTCCAGAGTGTGGGAAGAGCT
		TTTCCACAAGTGGACATCTGGTACGCCACCAGAGGACACATACAGGGGAGA
		AGCCCTACAAATGCCCCGAATGCGGTAAAAGTTTCTCTCAGAATAGTACCC
		TGACCGAACACCAGCGAACACACACTGGGAAAAAAACGAGTAAAAGGCCGG
		CGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCAT
		ACGACGTACCAGATTACGCTCTCGAGGACGCGCTGGACGATTTCGATCTCG
		ACATGCTGGGTTCTGATGCCCTCGATGACTTTGACCTGGATATGTTGGGAA
		GCGACGCATTGGATGACTTTGATCTGGACATGCTCGGCTCCGATGCTCTGG
		ACGATTTCGATCTCGATATGTTATAAACTAGTaaagagaccggttcactgt
		gacagtaaaagagaccggttcactgtgagaatgaaagagaccggttcactg
		tgatcggaaaagagaccggttcactgtgagcggccttgaaacccagcagac
		aatgtagctcagtagaaacccagcagacaatgtagctgaatggaaacccag
		cagacaatgtagcttcggagaaacccagcagacaatgtagctAAGCTTGGG
		TGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCC
		ACTCCAGTGCCCACCAGCCTTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTG
		TCTGACTAGGTGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGG

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		AGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGG GAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCC TCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTC CAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTAGAGACGG GGTTTCACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATC TACCCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCT CCCTTCCCTGTCCTT
SEQ ID NO: 308	SEQ ID NO: 355	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttcccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCG GTATCCACGGAGTCCCAGCAGCCCTCGAACCAGGTGAAAAACCTTACAAAT GTCCTGAATGTGGGAAATCATTCAGTCGCAGCGACAACCTGGTGAGACATC AACGCACCCATACAGGAGAAAAACCTTATAAATGTCCAGAATGTGGAAAGT CCTTCTCACGAGAGGATAACTTGCACACTCATCAACGAACACATACTGGTG AAAAACCATACAAGTGTCCCGAATGTGGTAAAAGTTTTAGCCGGAGCGATG AACTTGTCCGACACCAACGAACCCATACAGGCGAGAAGCCTTACAAATGTC CCGAGTGTGGCAAGAGCTTCTCACAATCAGGGAATCTGACTGAGCATCAAC GAACTCATACCGGGGAAAAACCTTACAAGTGTCCAGAGTGTGGGAAGAGCT TTTCCACAAGTGGACATCTGGTACGCCACCAGAGGACACATACAGGGGAGA AGCCCTACAAATGCCCCGAATGCGGTAAAAGTTTCTCTCAGAATAGTACCC TGACCGAACACCAGCGAACACACACTGGGAAAAAAACGAGTAAAAGGCCGG CGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCAT

25

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ACGACGTACCAGATTACGCTCTCGAGGACGCGCTGGACGATTTCGATCTCG ACATGCTGGGTTCTGATGCCCTCGATGACTTTGACCTGGATATGTTGGGAA GCGACGCATTGGATGACTTTGATCTGGACATGCTCGGCTCCGATGCTCTGG ACGATTTCGATCTCGATATGTTATAAACTAGTAAGCTTGGGTGGCATCCCT GTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGC CCACCAGCCTTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGG TGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCAAGGGGC AAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCT GGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTGGGTTC AAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTCCAGGCATGCA TGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTAGAGACGGGGTTTCACCA TATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTACCCACCTT GGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCCTTCCCTG TCCTT
SEQ ID NO: 313	SEQ ID NO: 356	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		caaaagggacgcggggtcctttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttcccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGccgcggccaaggccgagatgcagc tgatgtccccgctgcagatctctgacccgttcggatcctttcctcactcgc ccaccatggacaactaccctaagctggaggagatgatgctgctgagcaacg gggctccccagttcctcggcgccgccggggccccagagggcagcggcagca acagcagcagcagcagcagcgggggcggtggaggcggcgggggcggcagca acagcagcagcagcagcagcaccttcaaccctcaggcggacacgggcgagc

25

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		agccctacgagcacctgaccgcagagtcttttcctgacatctctctgaaca acgagaaggtgctggtggagaccagttaccccagccaaaccactcgactgc cccccatcacctatactggccgcttttccctggagcctgcacccaacagtg gcaacaccttgtggcccgagcccctcttcagcttggtcagtggcctagtga gcatgaccaacccaccggcctcctcgtcctcagcaccatctccagcggcct cctccgcctccgcctcccagagcccacccctgagctgcgcagtgccatcca acgacagcagtcccatttactcagcggcacccaccttccccacgccgaaca ctgacattttccctgagccacaaagccaggccttcccgggctcggcaggga cagcgctccagtacccgcctcctgcctaccctgccgccaagggtggcttcc aggttcccatgatccccgactacctgtttccacagcagcaggggatctgg gcctgggcaccccagaccagaagcccttccagggcctggagagccgcaccc agcagccttcgctaacccctctgtctactattaaggcctttgccactcagt cgggctcccaggacctgaaggccctcaataccagctaccagtcccagctca tcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgcccc cccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttct ccCGCAGCGACAACCTGGTGAGAcacatccgcatccacacaggccagaagc ccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGC ACACTcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatct gtggaagaaagtttgccCGGAGCGATGAACTTGTCCGAcataccaagatcc acttgcggcagaaggaccgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatc gccgcttctccCAATCAGGGAATCTGACTGAGcacatccgcatccacacag gccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcACAAGTG GACATCTGGTACGCcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcct gcgacatctgtggaagaaagtttgccCAGAATAGTACCCTGACCGAAcata ccaagatccacttgcggcagaaggacaagaaagcagacaaaagtgttgtgG CTAGCtcggccacctcctctctctcttcctacccgtccccggttgctacct cttacccgtccccggttactacctcttatccatccccggccaccacctcat acccatcccctgtgcccacctccttctcctctcccggctcctcgacctacc catcccctgtgcacagtggcttcccctccccgtcggtggccaccacgtact cctctgttccccctgctttcccggcccaggtcagcagcttcccttcctcag

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ctgtcaccaactccttcagcgcctccacagggctttcggacatgacagcaa ccttttctcccaggacaattgaaatttgctaaACTAGTaataaaagatctt tattttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtg
SEQ ID NO: 314	SEQ ID NO: 357	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttcccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGCCgccgaccacctgatgctcgccg agggctaccgcctggtgcagaggccgccgtccgccgccgccgcccatggcc ctcatgcgctccggactctgccgccgtacgcgggcccgggcctggacagtg ggctgaggccgcgggggctccgctggggccgccgccgccccgccaacccg gggccctggcgtacggggccttcgggccgccgtcctccttccagcccttc cggccgtgcctccgccggccgcgggcatcgcgcacctgcagcctgtggcga cgccgtaccccggccgcgcggccgcgccccccaacgctccgggaggccccc cgggcccgcagccggccccaagcgccgcagccccgccgccgcccgcgcacg ccctgggcggcatggacgccgaactcatcgacgaggaggcgctgacgtcgc tggagctggagctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcc tgggccagagcgagttcgactgcttctcggacttggggtccgcgccgcccg ccggctccgtgagctgcggtggttctggtggtggttctggtcagtcccagc tcatcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgc ccccccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgct tctccCGCAGCGACAACCTGGTGAGAcacatccgcatccacacaggccaga agcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCGAGAGGATAACT TGCACACTcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgaca

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		tctgtggaagaaagtttgccCGGAGCGATGAACTTGTCCGAcataccaaga tccacttgcggcagaaggaccgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtg atcgccgcttctccCAATCAGGGAATCTGACTGAGcacatccgcatccaca caggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcACAA GTGGACATCTGGTACGCcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcg cctgcgacatctgtggaagaaagtttgccCAGAATAGTACCCTGACCGAAc ataccaagatccacttgcggcagaaggacaagCTCGAGatggccgaccacc tgatgctcgccgagggctaccgcctggtgcagaggccgccgtccgccgccg ccgcccatggccctcatgcgctccggactctgccgccgtacgcgggcccgg gcctggacagtgggctgaggccgcgggggctccgctggggccgccgccgc cccgccaacccggggccctggcgtacggggccttcgggccgccgtcctcct tccagccctttccggccgtgcctccgccggccgcgggcatcgcgcacctgc agcctgtggcgacgccgtaccccggccgcgcggccgcgccccccaacgctc cgggaggcccccgggcccgcagccggccccaagcgccgcagccccgccgc cgcccgcgcacgccctgggcggcatggacgccgaactcatcgacgaggagg cgctgacgtcgctggagctggagctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgc ccgagctgttcctgggccagagcgagttcgactgcttctcggacttggggt ccgcgccgcccgccggctccgtgagctgctaaACTAGTaataaaagatctt tattttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtg
SEQ ID NO: 315	SEQ ID NO: 358	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtattttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtcctttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttcccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGccgcggccaaggccgagatgcagc

25

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		tgatgtccccgctgcagatctctgacccgttcggatcctttcctcactcgc
		ccaccatggacaactaccctaagctggaggagatgatgctgctgagcaacg
		gggctccccagttcctcggcgccgccggggccccagagggcagcggcagca
		acagcagcagcagcagcagcgggggcggtggaggcggcgggggcggcagca
		acagcagcagcagcagcagcaccttcaaccctcaggcggacacgggcgagc
		agccctacgagcacctgaccgcagagtcttttcctgacatctctctgaaca
		acgagaaggtgctggtggagaccagttaccccagccaaaccactcgactgc
		cccccatcacctatactggccgcttttccctggagcctgcacccaacagtg
		gcaacaccttgtggcccgagcccctcttcagcttggtcagtggcctagtga
		gcatgaccaacccaccggcctcctcgtcctcagcaccatctccagcggcct
		cctccgcctccgcctcccagagcccacccctgagctgcgcagtgccatcca
		acgacagcagtcccatttactcagcggcacccaccttccccacgccgaaca
		ctgacattttccctgagccacaaagccaggccttcccgggctcggcaggga
		cagcgctccagtacccgcctcctgcctaccctgccgccaagggtggcttcc
		aggttcccatgatccccgactacctgtttccacagcagcaggggatctgg
		gcctgggcaccccagaccagaagcccttccagggcctggagagccgcaccc
		agcagccttcgctaacccctctgtctactattaaggcctttgccactcagt
		cgggctcccaggacctgaaggccctcaataccagctaccagtcccagctca
		tcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgcccc
		cccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttct
		ccCGCTCAGACAACCTCGTTCGAcacatccgcatccacacaggccagaagc
		ccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCACCGGACTACACTCA
		CGAACcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatct
		gtggaagaaagtttgccAGAGAAGACAATCTCCATACTCACATCCGGACAC
		ACACGGGAGAGAAGCCATTCGCATGtGATATATGTGGGAGAAAGTTCTCCA
		CCAGCCATTCTCTCACTGAAcacatccgcatccacacaggccagaagccct
		tccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCAGTCTAGCTCACTGGTGA
		GGcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtg
		gaagaaagtttgccAGGGAGGATAACCTGCATACGcataccaagatccact
		tgcggcagaaggacaagaaagcagacaaaagtgttgtgGCTAGCtcggcca

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		cctcctctctctcttcctacccgtccccggttgctacctcttacccgtccc cggttactacctcttatccatccccggccaccacctcatacccatcccctg tgcccacctccttctcctctcccggctcctcgacctacccatcccctgtgc acagtggcttcccctccccgtcggtggccaccacgtactcctctgttcccc ctgctttcccggcccaggtcagcagcttcccttcctcagctgtcaccaact ccttcagcgcctccacagggctttcggacatgacagcaacctttctccca ggacaattgaaatttgctaaACTAGTaataaaagatctttattttcattag atctgtgtgttggtttttgtgtg
SEQ ID NO: 316	SEQ ID NO: 359	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttttccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGCCgccgaccacctgatgctcgccg agggctaccgcctggtgcagaggccgccgtccgccgccgccgcccatggcc ctcatgcgctccggactctgccgccgtacgcgggcccgggcctggacagtg ggctgaggccgcgggggctccgctggggccgccgccgccccgccaacccg gggccctggcgtacggggccttcgggccgccgtcctccttccagccctttc cggccgtgcctccgccggccgcgggcatcgcgcacctgcagcctgtggcga cgccgtaccccggccgcgcggccgcgccccccaacgctccgggaggccccc cgggcccgcagccggccccaagcgccgcagccccgccgccgcccgcgcacg ccctgggcggcatggacgccgaactcatcgacgaggaggcgctgacgtcgc tggagctggagctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcc tgggccagagcgagttcgactgcttctcggacttggggtccgcgccgcccg ccggctccgtgagctgcggtggttctggtggtggttctggtcagtcccagc

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		tcatcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgc ccccccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgct tctccCGCAGCGACAACCTGGTGAGAcacatccgcatccacacaggccaga agcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCGAGAGGATAACT TGCACACTcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgaca tctgtggaagaaagtttgccCGGAGCGATGAACTTGTCCGAcataccaaga tccacttgcggcagaaggaccgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtg atcgccgcttctccCAATCAGGGAATCTGACTGAGcacatccgcatccaca caggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcACAA GTGGACATCTGGTACGCcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcg cctgcgacatctgtggaagaaagtttgccCAGAATAGTACCCTGACCGAAc ataccaagatccacttgcggcagaaggacaagtaaCTCGAGACTAGTaata aaagatctttattttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtg
SEQ ID NO: 317	SEQ ID NO: 360	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttttccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGCCgccgaccacctgatgctcgccg agggctaccgcctggtgcagaggccgccgtccgccgccgccgcccatggcc ctcatgcgctccggactctgccgccgtacgcgggcccgggcctggacagtg ggctgaggccgcgggggctccgctggggccgccgccgccccgccaacccg gggccctggcgtacggggccttcgggccgccgtcctccttccagccctttc cggccgtgcctccgccggccgcgggcatcgcgcacctgcagcctgtggcga cgccgtaccccggccgcgcggccgcgccccccaacgctccgggaggccccc

25

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		cgggcccgcagccggccccaagcgccgcagccccgccgccgcccgcgcacg ccctgggcggcatggacgccgaactcatcgacgaggaggcgctgacgtcgc tggagctggagctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcc tgggccagagcgagttcgactgcttctcggacttggggtccgcgccgcccg ccggctccgtgagctgcggtggttctggtggtggttctggtcagtcccagc tcatcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgc ccccccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgct tctccCGCTCAGACAACCTCGTTCGAcacatccgcatccacacaggccaga agcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCACCGGACTACAC TCACGAACcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgaca tctgtggaagaaagtttgccAGAGAAGACAATCTCCATACTcataccaaga tccacttgcggcagaaggaccgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtg atcgccgcttctccACCAGCCATTCTCTCACTGAAcacatccgcatccaca caggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCAGT CTAGCTCACTGGTGAGGcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcg cctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGGGAGGATAACCTGCATACGc ataccaagatccacttgcggcagaaggacaagCTCGAGatggccgaccacc tgatgctcgccgagggctaccgcctggtgcagaggccgccgtccgccgccg ccgcccatggccctcatgcgctccggactctgccgccgtacgcgggcccgg gcctggacagtgggctgaggccgcgggggctccgctggggccgccgccgc cccgccaacccggggccctggcgtacggggccttcgggccgccgtcctcct tccagcccttccggccgtgcctccgccggccgcgggcatcgcgcacctgc agcctgtggcgacgccgtaccccggccgcgcggccgcgccccccaacgctc cgggaggcccccgggcccgcagccggccccaagcgccgcagccccgccgc cgcccgcgcacgccctgggcggcatggacgccgaactcatcgacgaggagg cgctgacgtcgctggagctggagctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgc ccgagctgttcctgggccagagcgagttcgactgcttctcggacttggggt ccgcgccgcccgccggctccgtgagctgctaaACTAGTaataaaagatctt tattttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtg
SEQ ID	SEQ	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
NO:	ID	tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc
318	NO:	ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg
	361	tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag
		agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg
		aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca
		caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt
		tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc
		acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa
		ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata
		cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt
		gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac
		tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta
		tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct
		ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct
		gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag
		caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg
		ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg
		cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg
		ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat
		tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga
		tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag
		ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt
		ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag
		ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga
		gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt
		acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa
		ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga
		ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc
		tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc
		gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttttccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGCCgccgaccacctgatgctcgccg agggctaccgcctggtgcagaggccgccgtccgccgccgccgcccatggcc ctcatgcgctccggactctgccgccgtacgcgggcccgggcctggacagtg ggctgaggccgcgggggctccgctggggccgccgccgccccgccaacccg gggccctggcgtacggggccttcgggccgccgtcctccttccagccctttc cggccgtgcctccgccggccgcgggcatcgcgcacctgcagcctgtggcga cgccgtaccccggccgcgcggccgcgccccccaacgctccgggaggccccc cgggcccgcagccggccccaagcgccgcagccccgccgccgcccgcgcacg ccctgggcggcatggacgccgaactcatcgacgaggaggcgctgacgtcgc tggagctggagctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcc tgggccagagcgagttcgactgcttctcggacttggggtccgcgccgcccg ccggctccgtgagctgcggtggttctggtggtggttctggtcagtcccagc tcatcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgc ccccccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgct tctccCGCTCAGACAACCTCGTTCGAcacatccgcatccacacaggccaga agcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCACCGGACTACAC TCACGAACcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgaca tctgtggaagaaagtttgccAGAGAAGACAATCTCCATACTcataccaaga tccacttgcggcagaaggaccgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtg atcgccgcttctccACCAGCCATTCTCTCACTGAAcacatccgcatccaca caggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCAGT

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		CTAGCTCACTGGTGAGGcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcg cctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGGGAGGATAACCTGCATACGc ataccaagatccacttgcggcagaaggacaagtaaCTCGAGACTAGTaata aaagatctttattttcattagatctgtgtgttggtttttgtgtg
SEQ ID NO: 319	SEQ ID NO: 362	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttcccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGccgcggccaaggccgagatgcagc tgatgtccccgctgcagatctctgacccgttcggatcctttcctcactcgc ccaccatggacaactaccctaagctggaggagatgatgctgctgagcaacg gggctccccagttcctcggcgccgccggggccccagagggcagcggcagca acagcagcagcagcagcagcgggggcggtggaggcggcgggggcggcagca acagcagcagcagcagcagcaccttcaaccctcaggcggacacgggcgagc agccctacgagcacctgaccgcagagtcttttcctgacatctctctgaaca acgagaaggtgctggtggagaccagttaccccagccaaaccactcgactgc cccccatcacctatactggccgcttttccctggagcctgcacccaacagtg gcaacaccttgtggcccgagcccctcttcagcttggtcagtggcctagtga gcatgaccaacccaccggcctcctcgtcctcagcaccatctccagcggcct cctccgcctccgcctcccagagcccacccctgagctgcgcagtgccatcca acgacagcagtcccatttactcagcggcacccaccttccccacgccgaaca ctgacattttccctgagccacaaagccaggccttcccgggctcggcaggga cagcgctccagtacccgcctcctgcctaccctgccgccaagggtggcttcc aggttcccatgatccccgactacctgtttccacagcagcaggggatctgg

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		gcctgggcaccccagaccagaagcccttccagggcctggagagccgcaccc agcagccttcgctaacccctctgtctactattaaggcctttgccactcagt cgggctcccaggacctgaaggccctcaataccagctaccagtcccagctca tcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgcccc cccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttct ccCGCAGCGACAACCTGGTGAGAcacatccgcatccacacaggccagaagc ccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGC ACACTcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatct gtggaagaaagtttgccCGGAGCGATGAACTTGTCCGAcataccaagatcc acttgcggcagaaggaccgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatc gccgcttctccCAATCAGGGAATCTGACTGAGcacatccgcatccacacag gccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcACAAGTG GACATCTGGTACGCcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcct gcgacatctgtggaagaaagtttgccCAGAATAGTACCCTGACCGAAcata ccaagatccacttgcggcagaaggacaagaaagcagacaaaagtgttgtgG CTAGCtcggccacctcctctctctcttcctacccgtccccggttgctacct cttacccgtccccggttactacctcttatccatccccggccaccacctcat acccatcccctgtgcccacctccttctcctctcccggctcctcgacctacc catcccctgtgcacagtggcttcccctccccgtcggtggccaccacgtact cctctgttccccctgctttcccggcccaggtcagcagcttcccttcctcag ctgtcaccaactccttcagcgcctccacagggctttcggacatgacagcaa ccttttctcccaggacaattgaaatttgctaaACTAGTAAGCTTGGGTGGC ATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTC CAGTGCCCACCAGCCTTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTG ACTAGGTGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCA AGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGGGAAC CAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCT GGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTCCAGG CATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTAGAGACGGGGTT TCACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTACC

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		CACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCCT TCCCTGTCCTT
SEQ ID NO: 325	SEQ ID NO: 363	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga

25

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc
		tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc
		gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa
		cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc
		gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc
		aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttcccccctctcaccttg
		tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg
		aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc
		cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag
		ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt
		gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc
		ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga
		cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGccgcggccaaggccgagatgcagc
		tgatgtccccgctgcagatctctgacccgttcggatcctttcctcactcgc
		ccaccatggacaactaccctaagctggaggagatgatgctgctgagcaacg
		gggctccccagttcctcggcgccgccggggccccagagggcagcggcagca
		acagcagcagcagcagcagcgggggcggtggaggcggcgggggcggcagca
		acagcagcagcagcagcagcaccttcaaccctcaggcggacacgggcgagc
		agccctacgagcacctgaccgcagagtcttttcctgacatctctctgaaca
		acgagaaggtgctggtggagaccagttaccccagccaaaccactcgactgc
		cccccatcacctatactggccgcttttccctggagcctgcacccaacagtg
		gcaacaccttgtggcccgagcccctcttcagcttggtcagtggcctagtga
		gcatgaccaacccaccggcctcctcgtcctcagcaccatctccagcggcct
		cctccgcctccgcctcccagagcccacccctgagctgcgcagtgccatcca
		acgacagcagtcccatttactcagcggcacccaccttccccacgccgaaca
		ctgacattttccctgagccacaaagccaggccttcccgggctcggcaggga
		cagcgctccagtacccgcctcctgcctaccctgccgccaagggtggcttcc
		aggttcccatgatccccgactacctgtttccacagcagcaggggatctgg
		gcctgggcaccccagaccagaagcccttccagggcctggagagccgcaccc
		agcagccttcgctaacccctctgtctactattaaggcctttgccactcagt

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		cgggctcccaggacctgaaggccctcaataccagctaccagtcccagctca tcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgcccc cccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttct ccCGCAGCGACAACCTGGTGAGAcacatccgcatccacacaggccagaagc ccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGC ACACTcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatct gtggaagaaagtttgccCGGAGCGATGAACTTGTCCGACACATCCGGACAC ACACGGGAGAGAAGCCATTCGCATGtGATATATGTGGGAGAAAGTTCTCCC AATCAGGGAATCTGACTGAGcacatccgcatccacacaggccagaagccct tccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcACAAGTGGACATCTGGTAC GCcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtg gaagaaagtttgccCAGAATAGTACCCTGACCGAAcataccaagatccact tgcggcagaaggacaagaaagcagacaaaagtgttgtgGCTAGCtcggcca cctcctctctctcttcctacccgtccccggttgctacctcttacccgtccc cggttactacctcttatccatccccggccaccacctcatacccatcccctg tgcccacctccttctcctctcccggctcctcgacctacccatcccctgtgc acagtggcttcccctccccgtcggtggccaccacgtactcctctgttcccc ctgctttcccggcccaggtcagcagcttcccttcctcagctgtcaccaact ccttcagcgcctccacagggctttcggacatgacagcaacctttctccca ggacaattgaaatttgctaaACTAGTAAGCTTGGGTGGCATCCCTGTGACC CCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCA GCCTTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGGTGTCCT TCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCAAGGGGCAAGTTG GGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTG CAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCGA TTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTCCAGGCATGCATGACCA GGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTAGAGACGGGGTTTCACCATATTGG CCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCTC CCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCCTT
	SEQ	ATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCGGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCC

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
	ID NO: 442	CTCGAACCAGGTGAAAAACCTTACAAATGTCCTGAATGTGGGAAATCATTC AGTCGCAGCGACAACCTGGTGAGACATCAACGCACCCATACAGGAGAAAAA CCTTATAAATGTCCAGAATGTGGAAAGTCCTTCTCACGAGAGGATAACTTG CACACTCATCAACGAACACATACTGGTGAAAAACCATACAAGTGTCCCGAA TGTGGTAAAAGTTTTAGCCGGAGCGATGAACTTGTCCGACACCAACGAACC CATACAGGCGAGAAGCCTTACAAATGTCCCGAGTGTGGCAAGAGCTTCTCA CAATCAGGGAATCTGACTGAGCATCAACGAACTCATACCGGGGAAAAACCT TACAAGTGTCCAGAGTGTGGGAAGAGCTTTTCCACAAGTGGACATCTGGTA CGCCACCAGAGGACACATACAGGGGAGAAGCCCTACAAATGCCCCGAATGC GGTAAAAGTTTCTCTCAGAATAGTACCCTGACCGAACACCAGCGAACACAC ACTGGGAAAAAAACGAGTAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAG GCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGACGTACCAGATTACGCTCTC GAGGAGGCCAGCGGTTCCGGACGGGCTGACGCATTGGACGATTTTGATCTG GATATGCTGGGAAGTGACGCCCTCGATGATTTTGACCTTGACATGCTTGGT TCGGATGCCCTTGATGACTTTGACCTCGACATGCTCGGCAGTGACGCCCTT GATGATTTCGACCTGGACATGCTGATTAACTCTAGAAGTTCCGGATCTCCG AAAAAGAAACGCAAAGTTGGTAGCCAGTACCTGCCCGACACCGACGACCGG CACCGGATCGAGGAAAAGCGGAAGCGGACCTACGAGACATTCAAGAGCATC ATGAAGAAGTCCCCCTTCAGCGGCCCCACCGACCCTAGACCTCCACCTAGA AGAATCGCCGTGCCCAGCAGATCCAGCGCCAGCGTGCCAAAACCTGCCCCC CAGCCTTACCCCTTCACCAGCAGCCTGAGCACCATCAACTACGACGAGTTC CCTACCATGGTGTTCCCCAGCGGCCAGATCTCTCAGGCCTCTGCTCTGGCT CCAGCCCCTCCTCAGGTGCTGCCTCAGGCTCCTGCTCCTGCACCAGCTCCA GCCATGGTGTCTGCACTGGCTCAGGCACCAGCACCCGTGCCTGTGCTGGCT CCTGGACCTCCACAGGCTGTGGCTCCACCAGCCCCTAAACCTACACAGGCC GGCGAGGGCACACTGTCTGAAGCTCTGCTGCAGCTGCAGTTCGACGACGAG GATCTGGGAGCCCTGCTGGGAAACAGCACCGATCCTGCCGTGTTCACCGAC CTGGCCAGCGTGGACAACAGCGAGTTCCAGCAGCTGCTGAACCAGGGCATC CCTGTGGCCCCTCACACCACCGAGCCCATGCTGATGGAATACCCCGAGGCC ATCACCCGGCTCGTGACAGGCGCTCAGAGGCCTCCTGATCCAGCTCCTGCC

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		CCTCTGGGAGCACCAGGCCTGCCTAATGGACTGCTGTCTGGCGACGAGGAC TTCAGCTCTATCGCCGATATGGATTTCTCAGCCTTGCTGGGCTCTGGCAGC GGCAGCCGGGATTCCAGGGAAGGGATGTTTTTGCCGAAGCCTGAGGCCGGC TCCGCTATTAGTGACGTGTTTGAGGGCCGCGAGGTGTGCCAGCCAAAACGA ATCCGGCCATTTCATCCTCCAGGAAGTCCATGGGCCAACCGCCCACTCCCC GCCAGCCTCGCACCAACACCAACCGGTCCAGTACATGAGCCAGTCGGGTCA CTGACCCCGGCACCAGTCCCTCAGCCACTGGATCCAGCGCCCGCAGTGACT CCCGAGGCCAGTCACCTGTTGGAGGATCCCGATGAAGAGACGAGCCAGGCT GTCAAAGCCCTTCGGGAGATGGCCGATACTGTGATTCCCCAGAAGGAAGAG GCTGCAATCTGTGGCCAAATGGACCTTTCCCATCCGCCCCCAAGGGGCCAT CTGGATGAGCTGACAACCACACTTGAGTCCATGACCGAGGATCTGAACCTG GACTCACCCCTGACCCCGGAATTGAACGAGATTCTGGATACCTTCCTGAAC GACGAGTGCCTCTTGCATGCCATGCATATCAGCACAGGACTGTCCATCTTC GACACATCTCTGTTT
	SEQ ID NO: 443	ATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCGGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCC CTCGAACCAGGTGAAAAACCTTACAAATGTCCTGAATGTGGGAAATCATTC AGTCGCAGCGACAACCTGGTGAGACATCAACGCACCCATACAGGAGAAAAA CCTTATAAATGTCCAGAATGTGGAAAGTCCTTCTCACGAGAGGATAACTTG CACACTCATCAACGAACACATACTGGTGAAAAACCATACAAGTGTCCCGAA TGTGGTAAAAGTTTTAGCCGGAGCGATGAACTTGTCCGACACCAACGAACC CATACAGGCGAGAAGCCTTACAAATGTCCCGAGTGTGGCAAGAGCTTCTCA CAATCAGGGAATCTGACTGAGCATCAACGAACTCATACCGGGGAAAAACCT TACAAGTGTCCAGAGTGTGGGAAGAGCTTTTCCACAAGTGGACATCTGGTA CGCCACCAGAGGACACATACAGGGGAGAAGCCCTACAAATGCCCCGAATGC GGTAAAAGTTTCTCTCAGAATAGTACCCTGACCGAACACCAGCGAACACAC ACTGGGAAAAAAACGAGTAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAG GCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGACGTACCAGATTACGCTCTC GAGGACGCGCTGGACGATTTCGATCTCGACATGCTGGGTTCTGATGCCCTC GATGACTTTGACCTGGATATGTTGGGAAGCGACGCATTGGATGACTTTGAT CTGGACATGCTCGGCTCCGATGCTCTGGACGATTTCGATCTCGATATGTTA

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
	SEQ ID NO: 444	ATGGCCCCAAAGAAGAAGCGGAAGGTCGGTATCCACGGAGTCCCAGCAGCC CTCGAACCAGGTGAAAAACCTTACAAATGTCCTGAATGTGGGAAATCATTC AGTCGCAGCGACAACCTGGTGAGACATCAACGCACCCATACAGGAGAAAAA CCTTATAAATGTCCAGAATGTGGAAAGTCCTTCTCACGAGAGGATAACTTG CACACTCATCAACGAACACATACTGGTGAAAAACCATACAAGTGTCCCGAA TGTGGTAAAAGTTTTAGCCGGAGCGATGAACTTGTCCGACACCAACGAACC CATACAGGCGAGAAGCCTTACAAATGTCCCGAGTGTGGCAAGAGCTTCTCA CAATCAGGGAATCTGACTGAGCATCAACGAACTCATACCGGGGAAAAACCT TACAAGTGTCCAGAGTGTGGGAAGAGCTTTTCCACAAGTGGACATCTGGTA CGCCACCAGAGGACACATACAGGGGAGAAGCCCTACAAATGCCCCGAATGC GGTAAAAGTTTCTCTCAGAATAGTACCCTGACCGAACACCAGCGAACACAC ACTGGGAAAAAAACGAGTAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAG GCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGACGTACCAGATTACGCTCTC GAGGACGCGCTGGACGATTTCGATCTCGACATGCTGGGTTCTGATGCCCTC GATGACTTTGACCTGGATATGTTGGGAAGCGACGCATTGGATGACTTTGAT CTGGACATGCTCGGCTCCGATGCTCTGGACGATTTCGATCTCGATATGTTA
	SEQ ID NO: 445	ATGGccgcggccaaggccgagatgcagctgatgtccccgctgcagatctct gacccgttcggatcctttcctcactcgcccaccatggacaactaccctaag ctggaggagatgatgctgctgagcaacggggctccccagttcctcggcgcc gccggggccccagagggcagcggcagcaacagcagcagcagcagcagcggg ggcggtggaggcggcgggggcggcagcaacagcagcagcagcagcagcacc ttcaaccctcaggcggacacgggcgagcagccctacgagcacctgaccgca gagtcttttcctgacatctctctgaacaacgagaaggtgctggtggagacc agttaccccagccaaaccactcgactgccccccatcacctatactggccgc ttttccctggagcctgcacccaacagtggcaacaccttgtggcccgagccc ctcttcagcttggtcagtggcctagtgagcatgaccaacccaccggcctcc tcgtcctcagcaccatctccagcggcctcctccgcctccgcctcccagagc ccacccctgagctgcgcagtgccatccaacgacagcagtcccatttactca gcggcacccaccttccccacgccgaacactgacattttccctgagccacaa agccaggccttcccgggctcggcagggacagcgctccagtacccgcctcct

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		gcctaccctgccgccaagggtggcttccaggttcccatgatccccgactac ctgtttccacagcagcaggggatctgggcctgggcaccccagaccagaag cccttccagggcctggagagccgcacccagcagccttcgctaacccctctg tctactattaaggcctttgccactcagtcgggctcccaggacctgaaggcc ctcaataccagctaccagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgcaag taccccaaccggcccagcaagacgccccccacgaacgcccttacgcttgc ccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCAGCGACAACCTGGTGAGA cacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatg AGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGCACACTcacatccgcacccacaca ggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccCGGAGC GATGAACTTGTCCGAcataccaagatccacttgcggcagaaggaccgccct tacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCAATCAGGGAAT CTGACTGAGcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgc atctgcatgAGAaacttcagcACAAGTGGACATCTGGTACGCcacatccgc acccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagttt gccCAGAATAGTACCCTGACCGAAcataccaagatccacttgcggcagaag gacaagaaagcagacaaaagtgttgtgGCTAGCtcggccacctcctctctc tcttcctacccgtccccggttgctacctcttacccgtccccggttactacc tcttatccatccccggccaccacctcatacccatcccctgtgcccacctcc ttctcctctcccggctcctcgacctacccatcccctgtgcacagtggcttc ccctccccgtcggtggccaccacgtactcctctgttccccctgctttcccg gcccaggtcagcagcttcccttcctcagctgtcaccaactccttcagcgcc tccacagggctttcggacatgacagcaacctttctcccaggacaattgaa atttgc
	SEQ ID NO: 446	ATGGCCgccgaccacctgatgctcgccgagggctaccgcctggtgcagagg ccgccgtccgccgccgccgcccatggccctcatgcgctccggactctgccg ccgtacgcgggcccgggcctggacagtgggctgaggccgcgggggctccg ctggggccgccgccgccccgccaacccggggccctggcgtacggggccttc gggccgccgtcctccttccagcccttccggccgtgcctccgccggccgcg ggcatcgcgcacctgcagcctgtggcgacgccgtaccccggccgcgcggcc

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		gcgccccccaacgctccgggaggcccccgggcccgcagccggccccaagc gccgcagccccgccgccgcccgcgcacgccctgggcggcatggacgccgaa ctcatcgacgaggaggcgctgacgtcgctggagctggagctggggctgcac cgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcctgggccagagcgagttcgactgc ttctcggacttggggtccgcgccgcccgccggctccgtgagctgcggtggt tctggtggtggttctggtcagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgc aagtaccccaaccggcccagcaagacgcccccccacgaacgcccttacgct tgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCAGCGACAACCTGGTG AGAcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgc atgAGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGCACACTcacatccgcacccac acaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccCGG AGCGATGAACTTGTCCGAcataccaagatccacttgcggcagaaggaccgc ccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCAATCAGGG AATCTGACTGAGcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgc cgcatctgcatgAGAaacttcagcACAAGTGGACATCTGGTACGCcacatc cgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaag tttgccCAGAATAGTACCCTGACCGAAcataccaagatccacttgcggcag aaggacaagCTCGAGatggccgaccacctgatgctcgccgagggctaccgc ctggtgcagaggccgccgtccgccgccgccgcccatggccctcatgcgctc cggactctgccgccgtacgcgggcccgggcctggacagtgggctgaggccg cgggggctccgctggggccgccgccccgccaacccggggccctggcg tacggggccttcgggccgccgtcctccttccagcccttccggccgtgcct ccgccggccgcgggcatcgcgcacctgcagcctgtggcgacgccgtacccc ggccgcgcggccgcgcccccaacgctccgggaggcccccgggcccgcag ccggccccaagcgccgcagccccgccgccgcccgcgcacgccctgggcggc atggacgccgaactcatcgacgaggaggcgctgacgtcgctggagctggag ctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcctgggccagagc gagttcgactgcttctcggacttggggtccgcgccgcccgccggctccgtg agctgc
	SEQ	ATGGccgcggccaaggccgagatgcagctgatgtccccgctgcagatctct

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
	ID NO: 447	gacccgttcggatcctttcctcactcgcccaccatggacaactaccctaag ctggaggagatgatgctgctgagcaacggggctccccagttcctcggcgcc gccggggccccagagggcagcggcagcaacagcagcagcagcagcagcgggg ggcggtggaggcggcgggggcggcagcaacagcagcagcagcagcagcacc ttcaaccctcaggcggacacgggcgagcagccctacgagcacctgaccgca gagtcttttcctgacatctctctgaacaacgagaaggtgctggtggagacc agttaccccagccaaaccactcgactgccccccatcacctatactggccgc ttttccctggagcctgcacccaacagtggcaacaccttgtggcccgagccc ctcttcagcttggtcagtggcctagtgagcatgaccaacccaccggcctcc tcgtcctcagcaccatctccagcggcctcctccgcctccgcctcccagagc ccacccctgagctgcgcagtgccatccaacgacagcagtcccatttactca gcggcacccaccttccccacgccgaacactgacattttccctgagccacaa agccaggccttcccgggctcggcagggacagcgctccagtacccgcctcct gcctaccctgccgccaagggtggcttccaggttcccatgatccccgactac ctgtttccacagcagcaggggatctgggcctgggcaccccagaccagaag cccttccagggcctggagagccgcacccagcagccttcgctaacccctctg tctactattaaggcctttgccactcagtcgggctcccaggacctgaaggcc ctcaataccagctaccagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgcaag taccccaaccggcccagcaagacgccccccacgaacgcccttacgcttgc ccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCTCAGACAACCTCGTTCGA cacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatg AGAaacttcagcCACCGGACTACACTCACGAACcacatccgcacccacaca ggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGAGAA GACAATCTCCATACTCACATCCGGACACACACGGGAGAGAAGCCATTCGCA TGtGATATATGTGGGAGAAAGTTCTCCACCAGCCATTCTCTCACTGAAcac atccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGA aacttcagcCAGTCTAGCTCACTGGTGAGGcacatccgcacccacacaggc gaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGGGAGGAT AACCTGCATACGcataccaagatccacttgcggcagaaggacaagaaagca gacaaaagtgttgtgGCTAGCtcggccacctcctctctctcttcctacccg

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		tccccggttgctacctcttacccgtccccggttactacctcttatccatcc ccggccaccacctcatacccatcccctgtgcccacctccttctcctctccc ggctcctcgacctacccatcccctgtgcacagtggcttcccctccccgtcg gtggccaccacgtactcctctgttccccctgctttcccggcccaggtcagc agcttcccttcctcagctgtcaccaactccttcagcgcctccacagggctt tcggacatgacagcaacctttctcccaggacaattgaaatttgc
	SEQ ID NO: 448	ATGGCCgccgaccacctgatgctcgccgagggctaccgcctggtgcagagg ccgccgtccgccgccgccgcccatggccctcatgcgctccggactctgccg ccgtacgcgggcccgggcctggacagtgggctgaggccgcgggggctccg ctggggccgccgccgccccgccaacccggggccctggcgtacggggccttc gggccgccgtcctccttccagccctttccggccgtgcctccgccggccgcg ggcatcgcgcacctgcagcctgtggcgacgccgtaccccggccgcgcggcc gcgccccccaacgctccgggaggcccccgggcccgcagccggccccaagc gccgcagccccgccgccgcccgcgcacgccctgggcggcatggacgccgaa ctcatcgacgaggaggcgctgacgtcgctggagctggagctggggctgcac cgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcctgggccagagcgagttcgactgc ttctcggacttggggtccgcgccgcccgccggctccgtgagctgcggtggt tctggtggtggttctggtcagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgc aagtaccccaaccggcccagcaagacgcccccccacgaacgcccttacgct tgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCAGCGACAACCTGGTG AGAcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgc atgAGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGCACACTcacatccgcacccac acaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccCGG AGCGATGAACTTGTCCGAcataccaagatccacttgcggcagaaggaccgc ccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCAATCAGGG AATCTGACTGAGcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgc cgcatctgcatgAGAaacttcagcACAAGTGGACATCTGGTACGCcacatc cgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaag tttgccCAGAATAGTACCCTGACCGAAcataccaagatccacttgcggcag aaggacaag

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
	SEQ ID NO: 449	ATGGCCgccgaccacctgatgctcgccgagggctaccgcctggtgcagaggccgccgtccgccgccgccgcccatggccctcatgcgctccggactctgccgccgtacgcgggcccgggcctggacagtgggctgaggccgcgggggctccgctggggccgccgccgccccgccaacccggggccctggcgtacggggccttcgggccgccgtcctccttccagcccttccggccgtgcctccgccggccgcggcatcgcgcacctgcagcctgtggcgacgccgtaccccggccgcgcggccgcgcccccaacgctccgggaggccccccgggcccgcagccggccccaagcgccgcagccccgccgccgcccgcgcacgccctgggcggcatggacgccgaactcatcgacgaggaggcgctgacgtcgctggagctggagctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcctgggccagagcgagttcgactgcttctcggacttggggtccgcgccgcccgccggctccgtgagctgcggtggttctggtggtggttctggtcagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgccccccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCTCAGACAACCTCGTTCGAcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCACCGGACTACACTCACGAACcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGAGAAGACAATCTCCATACTcataccaagatccacttgcggcagaaggaccgccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccACCAGCCATTCTCTCACTGAAcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCAGTCTAGCTCACTGGTGAGGcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGGGAGGATAACCTGCATACGcataccaagatccacttgcggcagaaggacaagCTCGAGatggccgaccacctgatgctcgccgagggctaccgcctggtgcagaggccgccgtccgccgccgccgcccatggccctcatgcgctccggactctgccgccgtacgcgggcccgggcctggacagtgggctgaggccgcgggggctccgctggggccgccgccgccccgccaacccggggccctggcgtacggggccttcgggccgccgtcctccttccagcccttccggccgtgcctccgccggccgcgggcatcgcgcacctgcagcctgtggcgacgccgtaccccggccgcgcggccgcgcccccaacgctccgggaggccccccgggcccgcag

25

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ccggccccaagcgccgcagccccgccgccgcccgcgcacgccctgggcggc atggacgccgaactcatcgacgaggaggcgctgacgtcgctggagctggag ctggggctgcaccgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcctgggccagagc gagttcgactgcttctcggacttggggtccgcgccgcccgccggctccgtg agctgc
	SEQ ID NO: 450	ATGGCCgccgaccacctgatgctcgccgagggctaccgcctggtgcagagg ccgccgtccgccgccgccgcccatggccctcatgcgctccggactctgccg ccgtacgcgggcccgggcctggacagtgggctgaggccgcgggggctccg ctggggccgccgccgccccgccaacccggggccctggcgtacggggccttc gggccgccgtcctccttccagcccttccggccgtgcctccgccggccgcg ggcatcgcgcacctgcagcctgtggcgacgccgtaccccggccgcgcggcc gcgccccccaacgctccgggaggccccccgggcccgcagccggccccaagc gccgcagccccgccgccgcccgcgcacgccctgggcggcatggacgccgaa ctcatcgacgaggaggcgctgacgtcgctggagctggagctggggctgcac cgcgtgcgcgagctgcccgagctgttcctgggccagagcgagttcgactgc ttctcggacttggggtccgcgccgcccgccggctccgtgagctgcggtggt tctggtggtggttctggtcagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgc aagtaccccaaccggcccagcaagacgccccccacgaacgcccttacgct tgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCTCAGACAACCTCGTT CGAcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgc atgAGAaacttcagcCACCGGACTACACTCACGAACcacatccgcacccac acaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGA GAAGACAATCTCCATACTcataccaagatccacttgcggcagaaggaccgc ccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccACCAGCCAT TCTCTCACTGAAcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgc cgcatctgcatgAGAaacttcagcCAGTCTAGCTCACTGGTGAGGcacatc cgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaag tttgccAGGGAGGATAACCTGCATACGcataccaagatccacttgcggcag aaggacaag
	SEQ	ATGGccgcggccaaggccgagatgcagctgatgtccccgctgcagatctct

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
	ID NO: 451	gacccgttcggatcctttcctcactcgcccaccatggacaactaccctaag ctggaggagatgatgctgctgagcaacggggctccccagttcctcggcgcc gccggggccccagagggcagcggcagcaacagcagcagcagcagcagcgggg ggcggtggaggcggcgggggcggcagcaacagcagcagcagcagcagcacc ttcaaccctcaggcggacacgggcgagcagccctacgagcacctgaccgca gagtcttttcctgacatctctctgaacaacgagaaggtgctggtggagacc agttaccccagccaaaccactcgactgccccccatcacctatactggccgc ttttccctggagcctgcacccaacagtggcaacaccttgtggcccgagccc ctcttcagcttggtcagtggcctagtgagcatgaccaacccaccggcctcc tcgtcctcagcaccatctccagcggcctcctccgcctccgcctcccagagc ccacccctgagctgcgcagtgccatccaacgacagcagtcccatttactca gcggcacccaccttccccacgccgaacactgacattttccctgagccacaa agccaggccttcccgggctcggcagggacagcgctccagtacccgcctcct gcctaccctgccgccaagggtggcttccaggttcccatgatccccgactac ctgtttccacagcagcaggggatctgggcctgggcaccccagaccagaag cccttccagggcctggagagccgcacccagcagccttcgctaacccctctg tctactattaaggcctttgccactcagtcgggctcccaggacctgaaggcc ctcaataccagctaccagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgcaag taccccaaccggcccagcaagacgccccccacgaacgcccttacgcttgc ccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCAGCGACAACCTGGTGAGA cacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatg AGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGCACACTcacatccgcacccacaca ggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccCGGAGC GATGAACTTGTCCGAcataccaagatccacttgcggcagaaggaccgccct tacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCAATCAGGGAAT CTGACTGAGcacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgc atctgcatgAGAaacttcagcACAAGTGGACATCTGGTACGCcacatccgc acccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagttt gccCAGAATAGTACCCTGACCGAAcataccaagatccacttgcggcagaag gacaagaaagcagacaaaagtgttgtgGCTAGCtcggccacctcctctctc

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		tcttcctacccgtccccggttgctacctcttacccgtccccggttactacc tcttatccatccccggccaccacctcatacccatcccctgtgcccacctcc ttctcctctcccggctcctcgacctacccatcccctgtgcacagtggcttc ccctccccgtcggtggccaccacgtactcctctgttccccctgctttcccg gcccaggtcagcagcttcccttcctcagctgtcaccaactccttcagcgcc tccacagggctttcggacatgacagcaacctttctcccaggacaattgaa atttgc
	SEQ ID NO: 452	ATGGccgcggccaaggccgagatgcagctgatgtccccgctgcagatctct gacccgttcggatcctttcctcactcgcccaccatggacaactaccctaag ctggaggagatgatgctgctgagcaacggggctccccagttcctcggcgcc gccggggccccagagggcagcggcagcaacagcagcagcagcagcagggg ggcggtggaggcggcgggggcggcagcaacagcagcagcagcagcagcacc ttcaaccctcaggcggacacgggcgagcagccctacgagcacctgaccgca gagtcttttcctgacatctctctgaacaacgagaaggtgctggtggagacc agttaccccagccaaaccactcgactgccccccatcacctatactggccgc ttttccctggagcctgcacccaacagtggcaacaccttgtggcccgagccc ctcttcagcttggtcagtggcctagtgagcatgaccaacccaccggcctcc tcgtcctcagcaccatctccagcggcctcctccgcctccgcctcccagagc ccacccctgagctgcgcagtgccatccaacgacagcagtcccatttactca gcggcacccaccttccccacgccgaacactgacattttccctgagccacaa agccaggccttcccgggctcggcagggacagcgctccagtacccgcctcct gcctaccctgccgccaagggtggcttccaggttcccatgatccccgactac ctgtttccacagcagcaggggatctgggcctgggcaccccagaccagaag cccttccagggcctggagagccgcacccagcagccttcgctaacccctctg tctactattaaggcctttgccactcagtcgggctcccaggacctgaaggcc ctcaataccagctaccagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgcaag taccccaaccggcccagcaagacgcccccccacgaacgcccttacgcttgc ccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCAGCGACAACCTGGTGAGA cacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatg AGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGCACACTcacatccgcacccacaca

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccCGGAGC GATGAACTTGTCCGACACATCCGGACACACACGGGAGAGAAGCCATTCGCA TGtGATATATGTGGGAGAAAGTTCTCCCAATCAGGGAATCTGACTGAGcac atccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGA aacttcagcACAAGTGGACATCTGGTACGCcacatccgcacccacacaggc gaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccCAGAATAGT ACCCTGACCGAAcataccaagatccacttgcggcagaaggacaagaaagca gacaaaagtgttgtgGCTAGCtcggccacctcctctctctcttcctacccg tccccggttgctacctcttacccgtccccggttactacctcttatccatcc ccggccaccacctcatacccatcccctgtgcccacctccttctcctctccc ggctcctcgacctacccatcccctgtgcacagtggcttcccctccccgtcg gtggccaccacgtactcctctgttccccctgctttcccggcccaggtcagc agcttcccttcctcagctgtcaccaactccttcagcgcctccacagggctt tcggacatgacagcaacctttctcccaggacaattgaaatttgc
	SEQ ID NO: 453	ATGGccgcggccaaggccgagatgcagctgatgtccccgctgcagatctct gacccgttcggatcctttcctcactcgcccaccatggacaactaccctaag ctggaggagatgatgctgctgagcaacggggctccccagttcctcggcgcc gccggggccccagagggcagcggcagcaacagcagcagcagcagcagcggg ggcggtggaggcggcgggggcggcagcaacagcagcagcagcagcagcacc ttcaaccctcaggcggacacgggcgagcagccctacgagcacctgaccgca gagtcttttcctgacatctctctgaacaacgagaaggtgctggtggagacc agttaccccagccaaaccactcgactgccccccatcacctatactggccgc ttttccctggagcctgcacccaacagtggcaacaccttgtggcccgagccc ctcttcagcttggtcagtggcctagtgagcatgaccaacccaccggcctcc tcgtcctcagcaccatctccagcggcctcctccgcctccgcctcccagagc ccacccctgagctgcgcagtgccatccaacgacagcagtcccatttactca gcggcacccaccttccccacgccgaacactgacattttccctgagccacaa agccaggccttcccgggctcggcagggacagcgctccagtacccgcctcct gcctaccctgccgccaagggtggcttccaggttcccatgatccccgactac ctgtttccacagcagcaggggatctgggcctgggcaccccagaccagaag

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		cccttccagggcctggagagccgcacccagcagccttcgctaacccctctg tctactattaaggcctttgccactcagtcgggctcccaggacctgaaggcc ctcaataccagctaccagtcccagctcatcaaacccagccgcatgcgcaag taccccaaccggcccagcaagacgcccccccacgaacgcccttacgcttgc ccagtggagtcctgtgatcgccgcttctccCGCTCAGACAACCTCGTTCGA cacatccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatg AGAaacttcagcCACCGGACTACACTCACGAACcacatccgcacccacaca ggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGAGAA GACAATCTCCATACTCACATCCGGACACACACGGGAGAGAAGCCATTCGCA TGtGATATATGTGGGAGAAAGTTCTCCACCAGCCATTCTCTCACTGAAcac atccgcatccacacaggccagaagcccttccagtgccgcatctgcatgAGA aacttcagcCAGTCTAGCTCACTGGTGAGGcacatccgcacccacacaggc gaaaagcccttcgcctgcgacatctgtggaagaaagtttgccAGGGAGGAT AACCTGCATACGcataccaagatccacttgcggcagaaggacaagaaagca gacaaaagtgttgtgGCTAGCtcggccacctcctctctctcttcctacccg tccccggttgctacctcttacccgtccccggttactacctcttatccatcc ccggccaccacctcatacccatcccctgtgcccacctccttctcctctccc ggctcctcgacctacccatcccctgtgcacagtggcttcccctccccgtcg gtggccaccacgtactcctctgttccccctgctttcccggcccaggtcagc agcttcccttcctcagctgtcaccaactccttcagcgcctccacagggctt tcggacatgacagcaacctttctcccaggacaattgaaatttgc
	SEQ ID NO: 454	ggaggaagccatcaactaaactacaatgactgtaagatacaaaattgggaa tggtaacatattttgaagttctgttgacataaagaatcatgatattaatgc ccatggaaatgaaagggcgatcaacactatggtttgaaaaggggaaattg tagagcacagatgtgttcgtgtggcagtgtgctgtctctagcaatactcag agaagagagagaacaatgaaattctgattggccccagtgtgagcccagatg aggttcagctgccaactttctctttcacatcttatgaaagtcatttaagca caactaacttttttttttttttttttttttgagacagagtcttgctctgt tgcccaggacagagtgcagtagtgactcaatctcggctcactgcagcctcc acctcctaggctcaaacggtcctcctgcatcagcctcccaagtagctggaa

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ttacaggagtggcccaccatgcccagctaatttttgtatttttaatagata cgggggtttcaccatatcacccaggctggtctcgaactcctggcctcaagt gatccacctgcctcggcctcccaaagtgctgggattataggcgtcagccac tatgcccaacccgaccaacctttttttaaaataaatatttaaaaaattggta tttcacatatatactagtatttacatttatccacacaaaacggacgggcct ccgctgaaccagtgaggccccagacgtgcgcataaataacccctgcgtgct gcaccacctggggagaggggaggaccacggtaaatggagcgagcgcatag caaaagggacgcggggtccttttctctgccggtggcactgggtagctgtgg ccaggtgtggtactttgatggggcccagggctggagctcaaggaagcgtcg cagggtcacagatctgggggaaccccggggaaaagcactgaggcaaaaccg ccgctcgtctcctacaatatatgggaggggaggttgagtacgttctggat tactcataagacctttttttttccttccgggcgcaaaaccgtgagctgga tttataatcgccctataaagctccagaggcggtcaggcacctgcagaggag ccccgccgctccgccgactagctgcccccgcgagcaacggcctcgtgattt ccccgccgatccggtccccgcctccccactctgcccccgcctaccccggag ccgtgcagccgcctctccgaatctctctcttctcctggcgctcgcgtgcga gagggaactagcgagaacgaggaagcagctggaggtgacgccgggcagatt acgcctgtcagggccgagccgagcggatcgctgggcgctgtgcagaggaaa ggcgggagtgcccggctcgctgtcgcagagccgaggtgggtaagctagcga ccacctggacttcccagcgcccaaccgtggcttttcagccaggtcctctcc tcccgcggcttctcaaccaaccccatcccagcgccggccacccaacctccc gaaatgagtgcttcctgccccagcagccgaaggcgctactaggaacggtaa cctgttacttttccaggggccgtagtcgacccgctgcccgagttgctgtgc gactgcgcgcgcggggctagagtgcaaggtgactgtggttcttctctggcc aagtccgagggagaacgtaaagatatgggccttttcccccctctcaccttg tctcaccaaagtccctagtccccggagcagttagcctctttctttccaggg aattagccagacacaacaacgggaaccagacaccgaaccagacatgcccgc cccgtgcgccctccccgctcgctgcctttcctccctcttgtctctccagag ccggatcttcaaggggagcctccgtgcccccggctgctcagtccctccggt gtgcaggaccccggaagtcctccccgcacagctctcgcttctctttgcagc

25

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		ctgtttctgcgccggaccagtcgaggactctggacagtagaggccccggga cgaccgagctgGAATTCGCCACCATGGccgcggccaaggccgagatgcagc tgatgtccccgctgcagatctctgacccgttcggatcctttcctcactcgc ccaccatggacaactaccctaagctggaggagatgatgctgctgagcaacg gggctccccagttcctcggcgccgccggggccccagagggcagcggcagca acagcagcagcagcagcagcgggggcggtggaggcggcgggggcggcagca acagcagcagcagcagcagcaccttcaaccctcaggcggacacgggcgagc agccctacgagcacctgaccgcagagtcttttcctgacatctctctgaaca acgagaaggtgctggtggagaccagttaccccagccaaaccactcgactgc cccccatcacctatactggccgcttttccctggagcctgcacccaacagtg gcaacaccttgtggcccgagcccctcttcagcttggtcagtggcctagtga gcatgaccaacccaccggcctcctcgtcctcagcaccatctccagcggcct cctccgcctccgcctcccagagcccacccctgagctgcgcagtgccatcca acgacagcagtcccatttactcagcggcacccaccttccccacgccgaaca ctgacattttccctgagccacaaagccaggccttcccgggctcggcaggga cagcgctccagtacccgcctcctgcctaccctgccgccaagggtggcttcc aggttcccatgatccccgactacctgtttccacagcagcaggggatctgg gcctgggcaccccagaccagaagcccttccagggcctggagagccgcaccc agcagccttcgctaacccctctgtctactattaaggcctttgccactcagt cgggctcccaggacctgaaggccctcaataccagctaccagtcccagctca tcaaacccagccgcatgcgcaagtaccccaaccggcccagcaagacgcccc cccacgaacgcccttacgcttgcccagtggagtcctgtgatcgccgcttct ccCGCAGCGACAACCTGGTGAGAcacatccgcatccacacaggccagaagc ccttccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcCGAGAGGATAACTTGC ACACTcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatct gtggaagaaagtttgccCGGAGCGATGAACTTGTCCGACACATCCGGACAC ACACGGGAGAGAAGCCATTCGCATGtGATATATGTGGGAGAAAGTTCTCCC AATCAGGGAATCTGACTGAGcacatccgcatccacacaggccagaagccct tccagtgccgcatctgcatgAGAaacttcagcACAAGTGGACATCTGGTAC GCcacatccgcacccacacaggcgaaaagcccttcgcctgcgacatctgtg

proteína eTF SEQ ID NO:	Ácido nucleico SEQ ID NO:	Secuencia de ácido nucleico
		gaagaaagtttgccCAGAATAGTACCCTGACCGAAcataccaagatccact tgcggcagaaggacaagaaagcagacaaaagtgttgtgGCTAGCtcggcca cctcctctctctcttcctacccgtccccggttgctacctcttacccgtccc cggttactacctcttatccatccccggccaccacctcatacccatcccctg tgcccacctccttctcctctcccggctcctcgacctacccatcccctgtgc acagtggcttcccctccccgtcggtggccaccacgtactcctctgttcccc ctgctttcccggcccaggtcagcagcttcccttcctcagctgtcaccaact ccttcagcgcctccacagggctttcggacatgacagcaacctttctccca ggacaattgaaatttgctaaACTAGTAAGCTTGGGTGGCATCCCTGTGACC CCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCA GCCTTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGGTGTCCT TCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCAAGGGGCAAGTTG GGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTG CAGTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCGA TTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTCCAGGCATGCATGACCA GGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTAGAGACGGGGTTTCACCATATTGG CCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCTC CCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCCTT

Tabla 17: Ejemplos de los eTF que favorecen la expresión de SCN1A

Casete de expresión	Sitio diana SEQ ID NO:	DBD SEQ ID NO:	TAD SEQ ID NO:
Control	N/A	Ninguno	Ninguno
A	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 131	SEQ ID NO: 95
B	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 131	SEQ ID NO: 114
C	SEQ ID NO: 36	SEQ ID NO: 132	SEQ ID NO: 95
D	SEQ ID NO: 36	SEQ ID NO: 132	SEQ ID NO:

			114
E	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 133	SEQ ID NO: 95
F	SEQ ID NO: 136	SEQ ID NO: 134	SEQ ID NO: 114
G	SEQ ID NO: 107	SEQ ID NO: 103	SEQ ID NO: 95
H	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 103	SEQ ID NO: 114

Tabla 18: Secuencias de los eTF que favorecen la expresión de SCN1A

eTF SEQ ID NO:	**secuencias de proteínas eTF**
SEQ ID NO: 305	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEEASGSGRADALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALD DFDLDMLGSDALDDFDLDMLINSRSSGSPKKKRKVGSQYLPDTDDRHRIEEK RKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIAVPSRSSASVPKPAPQPYPFTS SLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAPAPPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQ APAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLSEALLQLQFDDEDLGALLGNS TDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQR PPDPAPAPLGAPGLPNGLLSGDEDFSSIADMDFSALLGSGSGSRDSREGMFL PKPEAGSAISDVFEGREVCQPKRIRPFHPPGSPWANRPLPASLAPTPTGPVH EPVGSLTPAPVPQPLDPAPAVTPEASHLLEDPDEETSQAVKALREMADTVIP QKEEAAICGQMDLSHPPPRGHLDELTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDT FLNDECLLHAMHISTGLSIFDTSLF
SEQ ID NO: 306	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLG

	SDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 307	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLG SDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 308	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLG SDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 309	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEEASGSGRADALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALD DFDLDMLGSDALDDFDLDMLINSRSSGSPKKKRKVGSQYLPDTDDRHRIEEK RKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIAVPSRSSASVPKPAPQPYPFTS SLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAPAPPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQ APAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLSEALLQLQFDDEDLGALLGNS TDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQR PPDPAPAPLGAPGLPNGLLSGDEDFSSIADMDFSALLGSGSGSRDSREGMFL PKPEAGSAISDVFEGREVCQPKRIRPFHPPGSPWANRPLPASLAPTPTGPVH EPVGSLTPAPVPQPLDPAPAVTPEASHLLEDPDEETSQAVKALREMADTVIP QKEEAAICGQMDLSHPPPRGHLDELTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDT FLNDECLLHAMHISTGLSIFDTSLF
SEQ ID NO: 310	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLG

	SDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 311	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSRSDHLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDDLVRHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTTLTNHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSHSL TEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSR EDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEEASGSG RADALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML INSRSSGSPKKKRKVGSQYLPDTDDRHRIEEKRKRTYETFKSIMKKSPFSGP TDPRPPPRRIAVPSRSSASVPKPAPQPYPFTSSLSTINYDEFPTMVFPSGQI SQASALAPAPPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQAPAPVPVLAPGPPQAVAPPA PKPTQAGEGTLSEALLQLQFDDEDLGALLGNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQL LNQGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQRPPDPAPAPLGAPGLPNGLLS GDEDFSSIADMDFSALLGSGSGSRDSREGMFLPKPEAGSAISDVFEGREVCQ PKRIRPFHPPGSPWANRPLPASLAPTPTGPVHEPVGSLTPAPVPQPLDPAPA VTPEASHLLEDPDEETSQAVKALREMADTVIPQKEEAAICGQMDLSHPPPRG HLDELTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDTFLNDECLLHAMHISTGLSIF DTSLF
SEQ ID NO: 312	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRRDELNVHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSRSDHLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDDLVRHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHRTTLTNHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSHSL TEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSR EDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDF DLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 313	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTK

	IHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTS GHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVVA SSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPS PVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFS PRTIEIC
SEQ ID NO: 314	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTK IHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTS GHLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVVA SSATSSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPS PVHSGFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFS PRTIEIC
SEQ ID NO: 315	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPL GPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAP PNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVR ELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPN RPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFS REDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPV ESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEK PFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 316	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPL GPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAP PNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVR ELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPN RPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFS REDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPV ESCDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEK

	PFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSA AAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSS FQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPP PAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSA PPAGSVSC
SEQ ID NO: 317	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHIR THTGEKPFACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLV RHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVVASSAT SSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHS GFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTI EIC
SEQ ID NO: 318	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPL GPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAP PNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVR ELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPN RPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFS HRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPV ESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEK PFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 319	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPL GPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAP PNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVR ELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPN RPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFS HRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPV ESCDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEK

	PFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSA AAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSS FQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPP PAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSA PPAGSVSC
SEQ ID NO: 320	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSRSDHLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDDLVRHTK IHLRQKDRPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHR TTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVES CDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPF ACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVAT SYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYS SVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 321	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSRSDHLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDDLVRHTK IHLRQKDRPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHR TTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVES CDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPF ACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVAT SYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYS SVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC

SEQ ID NO: 322	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSRSDHLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDDLVRHTK IHLRQKDRPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHR TTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVES CDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPF ACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVAT SYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYS SVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 323	MTGKLAEKLPVTMSSLLNQLPDNLYPEEIPSALNLFSGSSDSVVHYNQMATE NVMDIGLTNEKPNPELSYSGSFQPAPGNKTVTYLGKFAFDSPSNWCQDNIIS LMSAGILGVPPASGALSTQTSTASMVQPPQGDVEAMYPALPPYSNCGDLYSE PVSFHDPQGNPGLAYSPQDYQSAKPALDSNLFPMIPDYNLYHHPNDMGSIPE HKPFQGMDPIRVNPPPITPLETIKAFKDKQIHPGFGSLPQPPLTLKPIRPRK YPNRPSKTPLHERPHACPAEGCDRRFSRSDNLVRHLRIHTGHKPFQCRICMR SFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDELVRHAKIHLKQKEHACP AEGCDRRFSQSGNLTEHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSTSGHLVRHIRTHTGE KPFACEFCGRKFAQNSTLTEHAKIHLKQKEKKAEKGGAPSASSAPPVSLAPV VTTCA
SEQ ID NO: 324	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPL GPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAP PNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVR ELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSCQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPH ERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHRTTLTNH IRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFS TSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPFACDICG RKFAREDNLHTHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO:	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA

325	GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSHRTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHIR THTGEKPFACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLV RHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVVASSAT SSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHS GFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTI EIC
SEQ ID NO: 365	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLG SDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 366	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQ RTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKK KGSYPYDVPDYALEEASGSGRADALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALD DFDLDMLGSDALDDFDLDMLINSRSSGSPKKKRKVGSQYLPDTDDRHRIEEK RKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIAVPSRSSASVPKPAPQPYPFTS SLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAPAPPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQ APAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLSEALLQLQFDDEDLGALLGNS TDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQR PPDPAPAPLGAPGLPNGLLSGDEDFSSIADMDFSALLGSGSGSRDSREGMFL PKPEAGSAISDVFEGREVCQPKRIRPFHPPGSPWANRPLPASLAPTPTGPVH EPVGSLTPAPVPQPLDPAPAVTPEASHLLEDPDEETSQAVKALREMADTVIP QKEEAAICGQMDLSHPPPRGHLDELTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDT FLNDECLLHAMHISTGLSIFDTSLF

SEQ ID NO: 364	MYPYDVPDYAGYPYDVPDYAGSYPYDVPDYAGSGSGSAAAKAEMQLMSPLQI SDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEGSGSNSSSSSSG GGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEKVLVETS YPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASSS SAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQA FPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQG LESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRP SKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSHR TTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDRPYACPVES CDRRFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLVRHIRTHTGEKPF ACDICGRKFAREDNLHTHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVAT SYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYS SVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 295	MYPYDVPDYAGYPYDVPDYAGSYPYDVPDYAGSGSGSAAAKAEMQLMSPLQI SDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAAGAPEGSGSNSSSSSSG GGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAESFPDISLNNEKVLVETS YPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFSLVSGLVSMTNPPASSS SAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPTFPTPNTDIFPEPQSQA FPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQQGDLGLGTPDQKPFQG LESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQSQLIKPSRMRKYPNRP SKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSRE DNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHTKIHLRQKDRPYACPVES CDRRFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLVRHIRTHTGEKPF ACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVAT SYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYS SVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 296	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSDPGALVRHIRIHTG

	QKPFQCRICMRNFSRSDNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSGDLRRHTK IHLRQKDRPYACPVESCDRRFSTHLDLIRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTS GNLVRHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDRPYACPVES CDRRFSQSGHLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSERSHLREHIRTHTGEKPF ACDICGRKFAQAGHLASHTKIHLRQKDKKADKSVVASSATSSLSSYPSPVAT SYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHSGFPSPSVATTYS SVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTIEIC
SEQ ID NO: 297	MRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLTRHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSHSTTLTNHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNRKTHIRTHTGEKPF ACDICGRKFSTSHSLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSQSSSLTRHIRTHTG EKPFACDICGRKFARSDNRKTHTKIHLRQKDKKADKSVVAS
SEQ ID NO: 298	MRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLTRHIRIHTGQKPFQCRI CMRNFSRSDNLTTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDERKRHIRTHTGEKPF ACDICGRKFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLTRHIRTHTG EKPFACDICGRKFAQSSTRKEHTKIHLRQKDKKADKSVVAS
SEQ ID NO: 299	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHIR THTGEKPFACDICGRKFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLV RHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVVASSAT SSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHS GFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTI EIC
SEQ ID NO: 440	MAAAKAEMQLMSPLQISDPFGSFPHSPTMDNYPKLEEMMLLSNGAPQFLGAA GAPEGSGSNSSSSSSGGGGGGGGSNSSSSSSTFNPQADTGEQPYEHLTAES FPDISLNNEKVLVETSYPSQTTRLPPITYTGRFSLEPAPNSGNTLWPEPLFS LVSGLVSMTNPPASSSSAPSPAASSASASQSPPLSCAVPSNDSSPIYSAAPT FPTPNTDIFPEPQSQAFPGSAGTALQYPPPAYPAAKGGFQVPMIPDYLFPQQ

	QGDLGLGTPDQKPFQGLESRTQQPSLTPLSTIKAFATQSGSQDLKALNTSYQ SQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSRSDNLVRHIRIHTG QKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDELVRHIR THTGEKPFACDICGRKFSQSGNLTEHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGHLV RHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQNSTLTEHTKIHLRQKDKKADKSVVASSAT SSLSSYPSPVATSYPSPVTTSYPSPATTSYPSPVPTSFSSPGSSTYPSPVHS GFPSPSVATTYSSVPPAFPAQVSSFPSSAVTNSFSASTGLSDMTATFSPRTI EIC

TABLA 19: secuencias poli A descritas en la presente

Secuencia PoliA	
SEQ ID NO: 326 spA (poli A sintética)	AATAAAAGATCTTTATTTTCATTAGATCTGTGTGTTGGTTTTTTGT GTGCGGACCGCACGTG
SEQ ID NO: 327 hGH (hormona de crecimiento humano poli A)	GGGTGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGG AAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCAGCCTTGTCCTAATAAAATTAAG TTGCATCATTTTGTCTGACTAGGTGTCCTTCTATAATATTATGGGG TGGAGGGGGGTGGTATGGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCT GTAGGGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGC ACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCGATT CTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGTTGGGATTCCAGGCATGCATGA CCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTAGAGACGGGGTTTCAC CATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTAC CCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTG CTCCCTTCCCTGTCCTT

Tabla 20: Ejemplos de dedos de zinc para modular la expresión del gen GRN endógeno

	Secuencia de aminoácidos		Secuencia de aminoácidos
SEQ ID NO: 141	RNDTLTE	SEQ ID NO: 153	RSDKLVR
SEQ ID NO: 142	RSDNLVR	SEQ ID NO: 154	QLAHLRA
SEQ ID NO: 143	RSDHLTT	SEQ ID NO: 155	ERSHLRE
SEQ ID NO: 144	SPADLTR	SEQ ID NO: 156	TTGNLTV
SEQ ID NO: 145	TSHSLTE	SEQ ID NO: 157	QRANLRA
SEQ ID NO: 146	QSGDLRR	SEQ ID NO: 158	SKKALTE
SEQ ID NO: 147	DPGALVR	SEQ ID NO: 159	REDNLHT
SEQ ID NO: 148	DPGHLVR	SEQ ID NO: 160	TKNSLTE
SEQ ID NO: 149	RSDELVR	SEQ ID NO: 161	RKDNLKN
SEQ ID NO: 150	DSGNLRV	SEQ ID NO: 162	QSSNLVR
SEQ ID NO: 151	HKNALQN	SEQ ID NO: 163	QSSSLVR
SEQ ID NO: 152	TSGELVR	SEQ ID NO: 164	QAGHLAS

Tabla 21: Ejemplos de los DBD de los eTF que modulan la expresión de GRN, que comprende una pluralidad de los ZF

	Secuencia de aminoácidos
SEQ ID NO:	LEPGEKPYKCPECGKSFSRNDTLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGAL

165	VRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS RSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTKNSLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 166	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGHL VRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDHLTTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS RSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDKLVRHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTTGNLTVHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 167	LEPGEKPYKCPECGKSFSRSDHLTTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDEL VRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDKLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS TTGNLTVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSTKNSLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 168	LEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDSGNL RVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS QRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 169	LEPGEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHKNAL QNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSERSHLREHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS SKKALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSRKDNLKNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHT GKKTS
SEQ ID NO: 170	LEPGEKPYKCPECGKSFSQSGDLRRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSPADL TRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS QLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPEC GKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 171	RNDTLTE **x** DPGALVR **x** TSGELVR **x** RSDNLVR **x** TSGELVR **x** TKNSLTE (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO: 412	RSDNLVR x DPGHLVR x RSDHLTT x RSDELVR x RSDKLVR x TTGNLTV

	(en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO: 413	RSDHLTT x RSDELVR x RSDKLVR x TTGNLTV x QLAHLRA x TKNSLTE (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO:414	SPADLTR x DSGNLRV x QLAHLRA x QRANLRA x REDNLHT x RSDNLVR (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO: 415	TSHSLTE x HKNALQN x ERSHLRE x SKKALTE x QRANLRA x RKDNLKN x QSSNLVR x QSSSLVR x QAGHLAS (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)
SEQ ID NO: 416	QSGDLRR x SPADLTR x DSGNLRV x QLAHLRA x QRANLRA x REDNLHT x RSDNLVR (en donde X indica un ligador que comprende 1-50 residuos de aminoácido)

Tabla 22: Ejemplos de secuencias de sitio diana para modular la expresión de GRN

Sitio diana SEQ ID NO:	ZF o ARNg que reconoce el sitio diana	Secuencia de sitio diana	coordenadas de inicio chr17
SEQ ID NO: 38	ZF	GAGTAGAAAAGAAACACA	44345153
SEQ ID NO: 330	ZF	CGCACTGTCAATGCCCCA	44344963
SEQ ID NO: 331	ZF	CCTGCTGAGGCTGTCCCG	44345058
SEQ ID NO: 332	ZF	AATGGGGTGTGGGGCGAG	44345111
SEQ ID NO: 333	ZF	CCTAGAAATGGGGTGTGG	44345105
SEQ ID NO: 334	ZF	TGAGTAGAAAAGAAACACAGCATTCCA	44345152
SEQ ID NO: 335	ZF	GAGTAGAAAAGAAACACAGCA	44345153
SEQ ID NO: 336	ZF	AGTAGAAAAGAAACACAGCAT	44345154
SEQ ID NO: 113	ARNg	CATGATCCCTAGAAATGGGGT	44345098

Tabla 23: Ejemplos de eTF que modulan la expresión de GRN

Case-te de expresión	Sitio diana SEQ ID NO:	DBD SEQ ID NO:	TAD SEQ ID NO:	Elemento regulador SEQ ID NO:
Control	N/A	Ninguno	Ninguno	SEQ ID NO: 178
A	SEQ ID NO: 331	SEQ ID NO: 165	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 178
B	SEQ ID NO: 331	SEQ ID NO: 165	SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 178
C	SEQ ID NO: 332	SEQ ID NO: 166	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 178
D	SEQ ID NO: 333	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 178
E	SEQ ID NO: 333	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 178
F	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 168	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 178
G	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 168	SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 178
H	SEQ ID NO: 334	SEQ ID NO: 169	SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 178
I	SEQ ID NO: 335	SEQ ID NO: 170	SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 179
J (K+eGFP)	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 168	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 179

K	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 168	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 179
L	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 168	SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 179
M	SEQ ID NO: 113	SEQ ID NO: 112	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 178

Tabla 24: Ejemplos de elementos reguladores (RE) descritos en la presente

	Tipo de RE	**Secuencia**
SEQ ID NO: 178	Intró-nica	GTGTGTATGCTCAGGGGCTGGGAAAGGAGGGGAGGGAGCTCCGGCTCAG
SEQ ID NO: 179	Promotor CBA	CGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAATGACGGCTCGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTG

		CCCCGCGGTGCGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTGCG GGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGT CGGGCTGTAACCCCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGC ACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGG GGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGG GCGGGGCGGGGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGC GCGGCGGCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCGCGGCGAGCCG CAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGGGCGCAGGGACT TCCTTTGTCCCAAATCTGGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGC CGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCA GGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTCGCCGCGCCGCC GTCCCCTTCTCCATCTCCAGCCTCGGGGCTGCCGCAGGGGGACGG CTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTCGGCTTCTGGCG TGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTCATGCCTT CTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTGTTGTGCT GTCTCATCATTTTGGCAAAGAATT
SEQ ID NO: 182	Intrónica	GTAAGGTAAGAATTGAATTTCTCAGTTGAAGGATGCTTACACTCT TGTCCATCTAG
SEQ ID NO: 183	Selectiva a parvalbúmina (PV)	GGAGGAAGCCATCAACTAAACTACAATGACTGTAAGATACAAAAT TGGGAATGGTAACATATTTTGAAGTTCTGTTGACATAAAGAATCA TGATATTAATGCCCATGGAAATGAAAGGGCGATCAACACTATGGT TTGAAAAGGGGGAAATTGTAGAGCACAGATGTGTTCGTGTGGCAG TGTGCTGTCTCTAGCAATACTCAGAGAAGAGAGAGAACAATGAAA TTCTGATTGGCCCCAGTGTGAGCCCAGATGAGGTTCAGCTGCCAA CTTTCTCTTTCACATCTTATGAAAGTCATTTAAGCACAACTAACT TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGACAGAGTCTTGCTCTGTTGC CCAGGACAGAGTGCAGTAGTGACTCAATCTCGGCTCACTGCAGCC TCCACCTCCTAGGCTCAAACGGTCCTCCTGCATCAGCCTCCCAAG TAGCTGGAATTACAGGAGTGGCCCACCATGCCCAGCTAATTTTTG TATTTTTAATAGATACGGGGGTTTCACCATATCACCCAGGCTGGT CTCGAACTCCTGGCCTCAAGTGATCCACCTGCCTCGGCCTCCCAA AGTGCTGGGATTATAGGCGTCAGCCACTATGCCCAACCCGACCAA CCTTTTTTAAAATAAATATTTAAAAAATTGGTATTTCACATATAT

		ACTAGTATTTACATTTATCCACACAAAACGGACGGGCCTCCGCTG AACCAGTGAGGCCCCAGACGTGCGCATAAATAACCCCTGCGTGCT GCACCACCTGGGGAGAGGGGGAGGACCACGGTAAATGGAGCGAGC GCATAGCAAAAGGGACGCGGGGTCCTTTTCTCTGCCGGTGGCACT GGGTAGCTGTGGCCAGGTGTGGTACTTTGATGGGGCCCAGGGCTG GAGCTCAAGGAAGCGTCGCAGGGTCACAGATCTGGGGGAACCCCG GGGAAAAGCACTGAGGCAAAACCGCCGCTCGTCTCCTACAATATA TGGGAGGGGGAGGTTGAGTACGTTCTGGATTACTCATAAGACCTT TTTTTTTTCCTTCCGGGCGCAAAACCGTGAGCTGGATTTATAATC GCCCTATAAAGCTCCAGAGGCGGTCAGGCACCTGCAGAGGAGCCC CGCCGCTCCGCCGACTAGCTGCCCCCGCGAGCAACGGCCTCGTGA TTTCCCCGCCGATCCGGTCCCCGCCTCCCCACTCTGCCCCCGCCT ACCCCGGAGCCGTGCAGCCGCCTCTCCGAATCTCTCTCTTCTCCT GGCGCTCGCGTGCGAGAGGGAACTAGCGAGAACGAGGAAGCAGCT GGAGGTGACGCCGGGCAGATTACGCCTGTCAGGGCCGAGCCGAGC GGATCGCTGGGCGCTGTGCAGAGGAAAGGCGGGAGTGCCCGGCTC GCTGTCGCAGAGCCGAGGTGGGTAAGCTAGCGACCACCTGGACTT CCCAGCGCCCAACCGTGGCTTTTCAGCCAGGTCCTCTCCTCCCGC GGCTTCTCAACCAACCCCATCCCAGCGCCGGCCACCCAACCTCCC GAAATGAGTGCTTCCTGCCCCAGCAGCCGAAGGCGCTACTAGGAA CGGTAACCTGTTACTTTTCCAGGGGCCGTAGTCGACCCGCTGCCC GAGTTGCTGTGCGACTGCGCGCGCGGGGCTAGAGTGCAAGGTGAC TGTGGTTCTTCTCTGGCCAAGTCCGAGGGAGAACGTAAAGATATG GGCCTTTTTCCCCCTCTCACCTTGTCTCACCAAAGTCCCTAGTCC CCGGAGCAGTTAGCCTCTTTCTTTCCAGGGAATTAGCCAGACACA ACAACGGGAACCAGACACCGAACCAGACATGCCCGCCCCGTGCGC CCTCCCCGCTCGCTGCCTTTCCTCCCTCTTGTCTCTCCAGAGCCG GATCTTCAAGGGGAGCCTCCGTGCCCCCGGCTGCTCAGTCCCTCC GGTGTGCAGGACCCCGGAAGTCCTCCCCGCACAGCTCTCGCTTCT CTTTGCAGCCTGTTTCTGCGCCGGACCAGTCGAGGACTCTGGACA GTAGAGGCCCCGGGACGACCGAGCTG
SEQ ID NO: 184	Selecti va a	TCAACAGGGGGACACTTGGGAAAGAAGGATGGGGACAGAGCCGAG AGGACTGTTACACATTAGAGAAACATCAGTGACTGTGCCAGCTTT

	parvalbúmina (PV)	GGGGTAGACTGCACAAAAGCCCTGAGGCAGCACAGGCAGGATCCA
		GTCTGCTGGTCCCAGGAAGCTAACCGTCTCAGACAGAGCACAAAG
		CACCGAGACATGTGCCACAAGGCTTGTGTAGAGAGGTCAGAGGAC
		AGCGTACAGGTCCCAGAGATCAAACTCAACCTCACCAGGCTTGGC
		AGCAAGCCTTTACCAACCCACCCCCACCCCACCCACCCTGCACGC
		GCCCCTCTCCCCTCCCCATGGTCTCCCATGGCTATCTCACTTGGC
		CCTAAAATGTTTAAGGATGACACTGGCTGCTGAGTGGAAATGAGA
		CAGCAGAAGTCAACAGTAGATTTTAGGAAAGCCAGAGAAAAAGGC
		TTGTGCTGTTTTTAGAAAGCCAAGGGACAAGCTAAGATAGGGCCC
		AAGTAATGCTAGTATTTACATTTATCCACACAAAACGGACGGGCC
		TCCGCTGAACCAGTGAGGCCCCAGACGTGCGCATAAATAACCCCT
		GCGTGCTGCACCACCTGGGGAGAGGGGGAGGACCACGGTAAATGG
		AGCGAGCGCATAGCAAAAGGGACGCGGGGTCCTTTTCTCTGCCGG
		TGGCACTGGGTAGCTGTGGCCAGGTGTGGTACTTTGATGGGGCCC
		AGGGCTGGAGCTCAAGGAAGCGTCGCAGGGTCACAGATCTGGGGG
		AACCCCGGGGAAAAGCACTGAGGCAAAACCGCCGCTCGTCTCCTA
		CAATATATGGGAGGGGGAGGTTGAGTACGTTCTGGATTACTCATA
		AGACCTTTTTTTTTTCCTTCCGGGCGCAAAACCGTGAGCTGGATT
		TATAATCGCCCTATAAAGCTCCAGAGGCGGTCAGGCACCTGCAGA
		GGAGCCCCGCCGCTCCGCCGACTAGCTGCCCCCGCGAGCAACGGC
		CTCGTGATTTCCCCGCCGATCCGGTCCCCGCCTCCCCACTCTGCC
		CCCGCCTACCCCGGAGCCGTGCAGCCGCCTCTCCGAATCTCTCTC
		TTCTCCTGGCGCTCGCGTGCGAGAGGGAACTAGCGAGAACGAGGA
		AGCAGCTGGAGGTGACGCCGGGCAGATTACGCCTGTCAGGGCCGA
		GCCGAGCGGATCGCTGGGCGCTGTGCAGAGGAAAGGCGGGAGTGC
		CCGGCTCGCTGTCGCAGAGCCGAGGTGGGTAAGCTAGCGACCACC
		TGGACTTCCCAGCGCCCAACCGTGGCTTTTCAGCCAGGTCCTCTC
		CTCCCGCGGCTTCTCAACCAACCCCATCCCAGCGCCGGCCACCCA
		ACCTCCCGAAATGAGTGCTTCCTGCCCCAGCAGCCGAAGGCGCTA
		CTAGGAACGGTAACCTGTTACTTTTCCAGGGGCCGTAGTCGACCC
		GCTGCCCGAGTTGCTGTGCGACTGCGCGCGCGGGGCTAGAGTGCA
		AGGTGACTGTGGTTCTTCTCTGGCCAAGTCCGAGGGAGAACGTAA
		AGATATGGGCCTTTTTCCCCCTCTCACCTTGTCTCACCAAAGTCC

		CTAGTCCCCGGAGCAGTTAGCCTCTTTCTTTCCAGGGAATTAGCC AGACACAACAACGGGAACCAGACACCGAACCAGACATGCCCGCCC CGTGCGCCCTCCCCGCTCGCTGCCTTTCCTCCCTCTTGTCTCTCC AGAGCCGGATCTTCAAGGGGAGCCTCCGTGCCCCCGGCTGCTCAG TCCCTCCGGTGTGCAGGACCCCGGAAGTCCTCCCCGCACAGCTCT CGCTTCTCTTTGCAGCCTGTTTCTGCGCCGGACCAGTCGAGGACT CTGGACAGTAGAGGCCCCGGGACGACCGAGCTG
SEQ ID NO: 185	Selectiva a parvalbúmina (PV)	GGAGGAAGCCATCAACTAAACTACAATGACTGTAAGATACAAAAT TGGGAATGGTAACATATTTTGAAGTTCTGTTGACATAAAGAATCA TGATATTAATGCCCATGGAAATGAAAGGGCGATCAACACTATGGT TTGAAAAGGGGGAAATTGTAGAGCACAGATGTGTTCGTGTGGCAG TGTGCTGTCTCTAGCAATACTCAGAGAAGAGAGAGAACAATGAAA TTCTGATTGGCCCCAGTGTGAGCCCAGATGAGGTTCAGCTGCCAA CTTTCTCTTTCACATCTTATGAAAGTCATTTAAGCACAACTAACT TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGACAGAGTCTTGCTCTGTTGC CCAGGACAGAGTGCAGTAGTGACTCAATCTCGGCTCACTGCAGCC TCCACCTCCTAGGCTCAAACGGTCCTCCTGCATCAGCCTCCCAAG TAGCTGGAATTACAGGAGTGGCCCACCATGCCCAGCTAATTTTTG TATTTTTAATAGATACGGGGGTTTCACCATATCACCCAGGCTGGT CTCGAACTCCTGGCCTCAAGTGATCCACCTGCCTCGGCCTCCCAA AGTGCTGGGATTATAGGCGTCAGCCACTATGCCCAACCCGACCAA CCTTTTTTAAAATAAATATTTAAAAAATTGGTATTTCACATATAT ACTAGT
SEQ ID NO: 417		GCCCTCTAGGCCACCTGACCAGGTCCCCTCAGTCCCCCCCTTCCC ACACTCCCACACTCAGCCCCCCTCCCCCCCCCCCGACCCCTGCAG GATTATCCTGTCTGTGTTCCTGACTCAGCCTGGGAGCCACCTGGG CAGCAGGGGCCAAGGGTGTCCTAGAAGGGACCTGGAGTCCACGCT GGGCCAAGCCTGCCCTTTCTCCCTCTGTCTTCCGTCCCTGCTTGC GGTTCTGCTGAATGTGGTTATTTCTCTGGCTCCTTTTACAGAGAA TGCTGCTGCTAATTTTATGTGGAGCTCTGAGGCAGTGTAATTGGA AGCCAGACACCCTGTCAGCAGTGGGCTCCCGTCCTGAGCTGCCAT GCTTCCTGCTCTCCTCCCGTCCCGGCTCCTCATTTCATGCAGCCA CCTGTCCCAGGGAGAGAGGAGTCACCCAGGCCCCTCAGTCCGCCC

		CTTAAATAAGAAAGCCTCCGTTGCTCGGCACACATACCAAGCAGC CGCTGGTGCAATCT

Tabla 25: Secuencias adicionales descritas en la presente

	Secuencias
seq id no: 112 (secuencia dSaCas9 para modular GRN)	KRNYILGLAIGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGARRLK RRRRHRIQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEEEFSAALLHLA KRRGVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKKDGEVRGSIN RFKTSDYVKEAKQLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKD IKEWYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVITRDENEKLEYYEKF QIIENVFKQKKKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNLKVYHDIKDITA RKEIIENAELLDQIAKILTIYQSSEDIQEELTNLNSELTQEEIEQISNLKGYTGTH NLSLKAINLILDELWHTNDNQIAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPV VKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIIELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQTNERI EEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSLEAIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPR SVSFDNSFNNKVLVKQEEASKKGNRTPFQYLSSSDSKISYETFKKHILNLAKGKGR ISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRGLMNLLRSYFRVNNLDVKV KSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANADFIFKEWKKLDKAKKVME NQMFEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIKHIKDFKDYKYSHRVDKKPNRELIN DTLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLINKSPEKLLMYHHDPQTYQKLK LIMEQYGDEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGNKLNAHLDITDDY PNSRNKVVKLSLKPYRFDVYLDNGVYKFVTVKNLDVIKKENYYEVNSKCYEEAKKL KKISNQAEFIASFYNNDLIKINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMIDITYREYLENMN DKRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDILGNLYEVKSKKHPQIIKKG
SEQ ID NO: 186 promotor EF1a	GAGTAATTCATACAAAAGGACTCGCCCCTGCCTTGGGGAATCCCAGGGACCGTCGT TAAACTCCCACTAACGTAGAACCCAGAGATCGCTGCGTTCCCGCCCCCTCACCCGC CCGCTCTCGTCATCACTGAGGTGGAGAAGAGCATGCGTGAGGCTCCGGTGCCCGTC AGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGC AATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGT GTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAG TCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCC GTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTG

	AATTACTTCCACGCCCCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTT GGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGC TTGAGTTGAGGCCTGGCTTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACC TTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGA CCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCT GCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCC AGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGG GGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTAT CGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAA GATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCG GGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGC CGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGT TCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATG GAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGAT GTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGC CTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGA
SEQ ID NO: 187	GAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGTTTACTCCCTATCAGTG ATAGAGAACGATGTCGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGTT TACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGA GAACGTATGTCGAGTTTATCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGTTTACTC CCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGCCTATA TAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCGAATTCGCCACCATGGTGAGC AAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGA CGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACG GCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCC ACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCA CATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGC GCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTC GAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGA CGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACTACAACAGCCACAACGTCTATA TCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCAAGATCCGCCACAAC ATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCCATCGG CGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGA

	GCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCC GCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTCCGGACTCAGATCTCGAGA GGAGGAGGAGGAGACAGACAGCAGGATGCCCCACCTCGACAGCCCCGGCAGCTCCC AGCCGAGACGCTCCTTCCTCTCAAGGGTGATCAGGGCAGCTCTACCGTTGCAGCTG CTTCTGCTGCTGCTGCTGCTCCTGGCCTGCCTGCTACCTGCCTCTGAAGATGACTA CAGCTGCACCCAGGCCAACAACTTTGCCCGATCCTTCTACCCCATGCTGCGGTACA CCAACGGGCCACCTCCCACCTAGACTAGTaataaaagatctttattttcattagat ctgtgtgttggtttttgtgtg
SEQ ID NO: 188	GAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGTTTACTCCCTATCAGTG ATAGAGAACGATGTCGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGTT TACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGA GAACGTATGTCGAGTTTATCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGTTTACTC CCTATCAGTGATAGAGAACGTATGTCGAGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGCCTATA TAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCC
SEQ ID NO: 418	GCCACCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGT CGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGG GCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTG CCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAG CCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAG GCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGC GCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCAT CGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACTACAACA GCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTC AAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCA GAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACCTGAGCA CCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCTGCTG GAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTCCGG ACTCAGATCTCGAGAGGAGGAGGAGGAGACAGACAGCAGGATGCCCCACCTCGACA GCCCCGGCAGCTCCCAGCCGAGACGCTCCTTCCTCTCAAGGGTGATCAGGGCAGCT CTACCGTTGCAGCTGCTTCTGCTGCTGCTGCTGCTCCTGGCCTGCCTGCTACCTGC CTCTGAAGATGACTACAGCTGCACCCAGGCCAACAACTTTGCCCGATCCTTCTACC CCATGCTGCGGTACACCAACGGGCCACCTCCCACCTAG
SEQ ID	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCP

NO: 365	ECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCP ECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCP ECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDA LDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML
SEQ ID NO: 366	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCP ECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCP ECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCP ECGKSFSREDNLHTHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEEA SGSGRADALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML INSRSSGSPKKKRKVGSQYLPDTDDRHRIEEKRKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPR PPPRRIAVPSRSSASVPKPAPQPYPFTSSLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAP APPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQAPAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLS EALLQLQFDDEDLGALLGNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPML MEYPEAITRLVTGAQRPPDPAPAPLGAPGLPNGLLSGDEDFSSIADMDFSALLGSG SGSRDSREGMFLPKPEAGSAISDVFEGREVCQPKRIRPFHPPGSPWANRPLPASLA PTPTGPVHEPVGSLTPAPVPQPLDPAPAVTPEASHLLEDPDEETSQAVKALREMAD TVIPQKEEAAICGQMDLSHPPPRGHLDELTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDT FLNDECLLHAMHISTGLSIFDTSLF
SEQ ID NO: 367 control Vector EGFP-KASH	GCGGCCGCACGCGTGGCGCGCCGTTTAAACTTAATTAAGCTAGCCGTTACATAACT TACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAA TAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGG GTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCC AAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCC AGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATC GCTATTACCATGgtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatctccc ccccctccccacccccaatttgtatttatttatttttaattattttgtgcagcg atgggggcgggggggggggggcgcgcgccaggcggggcggggcggggcgagggggc ggggcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttccttttatggcgaggcggcggcggcggcggccctataaaaagcgaagcgc gcggcgggcgggagtcgctgcgttgccttcgccccgtgccccgctccgcgccgcct cgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtgagcgggcgg gacggcccttctcctccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggctcgtttc ttttctgtggctgcgtgaaagccttaaagggctccgggagggccctttgtgcgggg

gggagcggctcgggggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcgg
cccgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcgggcgcggcgcggggctttgtgcgct
ccgcgtgtgcgcgaggggagcgcggccgggggcggtgccccgcggtgcgggggggc
tgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggggtgtgtgcgtgggggggtgagcagggg
tgtgggcgcggcggtcgggctgtaacccccccctgcacccccctccccgagttgct
gagcacggcccggcttcgggtgcggggctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgc
cgtgccgggcgggggtggcggcaggtgggggtgccgggcggggcggggccgcctc
gggccggggagggctcgggggaggggcgcggcggccccggagcgccggcggctgtc
gaggcgcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgtgcgagagggcgcag
ggacttcctttgtcccaaatctggcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcacc
ccctctagcgggcgcgggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggg
gagggccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtcccccttctccatctccagcctcgggg
ctgccgcaggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggctt
ctggcgtgtgaccggcggctctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttct
ttttcctacagctcctgggcaacgtgctggttgttgtgctgtctcatcattttggc
aaagaattGGTACCGCCACCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTG
GTGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTC
CGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCA
CCACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGC
GTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTC
CGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCA
ACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATC
GAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGA
GTACAACTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCA
TCAAGGTGAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCC
GACCACTACCAGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAA
CCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATC
ACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAG
CTGTACAAGTCCGGACTCAGATCTCGAGAGGAGGAGGAGGAGACAGACAGCAGGAT
GCCCCACCTCGACAGCCCCGGCAGCTCCCAGCCGAGACGCTCCTTCCTCTCAAGGG
TGATCAGGGCAGCTCTACCGTTGCAGCTGCTTCTGCTGCTGCTGCTGCTCCTGGCC
TGCCTGCTACCTGCCTCTGAAGATGACTACAGCTGCACCCAGGCCAACAACTTTGC
CCGATCCTTCTACCCCATGCTGCGGTACACCAACGGGCCACCTCCCACCTAGAGCG

	CTaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattcttaactat gttgctcctttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctat tgcttcccgtatggctttcattttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctc tttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgttt gctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgg gactttcgctttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttg cccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcg gggaaatcatcgtcctttccttggctgctcgcctatgttgccacctggattctgcg cgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttccc gcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacg agtcggatctccctttgggccgcctccccgcAGATCTACGGGTGGCATCCCTGTGA CCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCAGCC TTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGGTGTCCTTCTATAAT ATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTG TAGGGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGC TCACTGCAATCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAG TTGTTGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTA GAGACGGGGTTTCACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGA TCTACCCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCC TTCCCTGTCCTTCTGATTTTGTAGGTAACCACGTGCGGACCGAGCGGCCGC
SEQ ID NO: 368 EGFP-KASH activado por promotor CBA	GCGGCCGCACGCGTGGCGCGCCGTTTAAACTTAATTAAGCTAGCCGTTACATAACT TACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAA TAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGG GTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCC AAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCC AGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATC GCTATTACCATGggtcgaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatctccc ccccctccccacccccaatttgtatttatttatttttaattattttgtgcagcg atgggggcgggggggggggggcgcgcgccaggcggggcggggcggggcgaggggc ggggcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccga agtttccttttatggcgaggcggcggcggcggccctataaaaagcgaagcgc gcggcgggcgggagtcgctgcgttgccttcgccccgtgccccgctccgcgccgcct cgcgccgcccgccccggctctgactgaccgcgttactcccacaggtgagcgggcgg

gacggcccttctcctccgggctgtaattagcgcttggtttaatgacggctcgtttc
ttttctgtggctgcgtgaaagccttaaagggctccgggagggccctttgtgcgggg
gggagcggctcgggggtgcgtgcgtgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcgg
cccgcgctgcccggcggctgtgagcgctgcgggcgcggcgcggggctttgtgcgct
ccgcgtgtgcgcgaggggagcgcggccgggggcggtgccccgcggtgcgggggggc
tgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggggtgtgtgcgtgggggggtgagcagggg
tgtgggcgcggcggtcgggctgtaacccccccctgcacccccctccccgagttgct
gagcacggcccggcttcgggtgcggggctccgtgcggggcgtggcgcggggctcgc
cgtgccgggcgggggtggcggcaggtgggggtgccgggcggggcggggccgcctc
gggccggggagggctcgggggaggggcgcggcggccccggagcgccggcggctgtc
gaggcgcggcgagccgcagccattgccttttatggtaatcgtgcgagagggcgcag
ggacttcctttgtcccaaatctggcggagccgaaatctgggaggcgccgccgcacc
ccctctagcgggcgcgggcgaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggg
gagggccttcgtgcgtcgccgcgccgccgtccccttctccatctccagcctcgggg
ctgccgcaggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggctt
ctggcgtgtgaccggcggctctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttct
ttttcctacagctcctgggcaacgtgctggttgttgtgctgtctcatcattttggc
aaagaattGGTACCGCCACCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTG
GTGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTC
CGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCA
CCACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGC
GTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTC
CGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCA
ACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATC
GAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGA
GTACAACTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCA
TCAAGGTGAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCC
GACCACTACCAGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAA
CCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATC
ACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAG
CTGTACAAGTCCGGACTCAGATCTCGAGAGGAGGAGGAGGAGACAGACAGCAGGAT
GCCCCACCTCGACAGCCCCGGCAGCTCCCAGCCGAGACGCTCCTTCCTCTCAAGGG
TGATCAGGGCAGCTCTACCGTTGCAGCTGCTTCTGCTGCTGCTGCTGCTCCTGGCC

	TGCCTGCTACCTGCCTCTGAAGATGACTACAGCTGCACCCAGGCCAACAACTTTGC CCGATCCTTCTACCCCATGCTGCGGTACACCAACGGGCCACCTCCCACCTAGAGCG CTaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattcttaactat gttgctcctttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctat tgcttcccgtatggctttcattttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctc tttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgttt gctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgg gactttcgctttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttg cccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcg gggaaatcatcgtcctttccttggctgctcgcctatgttgccacctggattctgcg cgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttccc gcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacg agtcggatctccctttgggccgcctccccgcAGATCTACGGGTGGCATCCCTGTGA CCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCAGCC TTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGGTGTCCTTCTATAAT ATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGTATGGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTG TAGGGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGC TCACTGCAATCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAG TTGTTGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTTGGTA GAGACGGGGTTTCACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGA TCTACCCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGTGAACCACTGCTCCC TTCCCTGTCCTTCTGATTTTGTAGGTAACCACGTGCGGACCGAGCGGCCGC
SEQ ID NO: 422 WT EGR3	MTGKLAEKLPVTMSSLLNQLPDNLYPEEIPSALNLFSGSSDSVVHYNQMATENVMD IGLTNEKPNPELSYSGSFQPAPGNKTVTYLGKFAFDSPSNWCQDNIISLMSAGILG VPPASGALSTQTSTASMVQPPQGDVEAMYPALPPYSNCGDLYSEPVSFHDPQGNPG LAYSPQDYQSAKPALDSNLFPMIPDYNLYHHPNDMGSIPEHKPFQGMDPIRVNPPP ITPLETIKAFKDKQIHPGFGSLPQPPLTLKPIRPRKYPNRPSKTPLHERPHACPAE GCDRRFSRSDELTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSRSDHLTTHIRTHTGEKPFACE FCGRKFARSDERKRHAKIHLKQKEKKAEKGGAPSASSAPPVSLAPVVTTCA

Tabla 26: Regiones genómicas SCN1A tomadas como diana por ARNg y proteína dCas

Posición de inicio de Chr 2 de humano - donde se ubica la secuencia diana	SEQ ID NO de ARNg	Secuencia de ARN guía (que corresponde a la secuencia genómica reconocida por el ARNg)
166178880	197	ggtacgggcaaagatttcttg
166178871	198	tttgcccgtaccaaagtcttg
166177369	201	ACACAATGAGCCACCTACAAG
166177362	202	GTGGCTCATTGTGTGTGTGCC
166177299	203	AGAAAGCTGATACAGATACAA
166155393	207	TTCTCAGTTTTGAAATTAAAA
166155264	208	CATATCCCTGCAGGTTCAGAA
166155255	209	TGGATTCTCTTCTGAACCTGC
166155099	210	agagagagagagagagagaga
166149373	211	TGGTCTCATTCTTTTTGTGGG
166149176	107	aaggctgtctaggtcaagtgt
166149118	224	tgttcctccagattaacactt
166148953	225	ATTACAGTTCTGTCAGCATGC
166148843	226	ATCATCTGTAACCATCAAGGA
166148565	227	TCCTGCCTACTTAGTTTCAAG
166148361	228	TGCTGAGGCAGGACACAGTGT
166142396	229	ACAAAGTAAGTGTCAGTGTGG
166142391	230	CTGACACTTACTTTGTCTAAA
166142344	231	ATAATAGTTGTGTCTTTATAA
166142239	232	CGATATTTTCATGGATTCCTT
166142219	233	AAAACTGGAACCGCATTCCCA
166141162	234	TGTACAAGCAGGGCTGCAAAG
166141145	235	AAAGGGGAATGGGAACACCCG
166141090	236	ATGTTCAAGGTGCAGAAGGAA
166140928	237	ttcaacaagctcccaagaagt
166140590	238	GTTAACAAATACACTAAACAC
166128037	109	gctgatttgtattaggtacca
166128002	108	gatgaagccgagaggatactg

165990246	247	TGTTTGCTCAAACGTGCACCA
165990193	248	AAATATGTACCACAAGAAATG
165990076	249	TATCTGGTTTCTCTCACTGCT
165989684	250	AAATAAGACATGAAAACAAGA
165989571	251	ATTGCAAAGCATAATTTGGAT

Tabla 27: Ejemplos de regiones genómicas SCN1A tomadas como diana por los eTF de dedos de zinc

Posición de inicio de Chr 2 de humano - donde se ubica la secuencia diana	SEQ ID NO de sitio diana	Secuencia de sitio diana reconocida por la proteína de unión a ADN	SEQ ID NO de eTF
166149168	35	ctaggtcaagtgtaggag	271
166149165	257	GGTCAAGTGTAGGAGACA	273
166128025	36	taggtaccatagagtgag	279
166127991	136	gaggatactgcagaggtc	280

Tabla 28: eTF de secuencias de aminoácidos que reconocen sitios diana SCN1A

eTF SEQ ID NO:	Secuencia de eTF	Sitio diana reconocido
SEQ ID NO: 272	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTH TGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSD NLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHT GEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQNST LTEHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALD DFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML	SEQ ID NO: 257

SEQ ID NO: 280	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSDPGALVRHQRTH TGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSG DLRRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPE CGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHT GKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGS DALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML	SEQ ID NO: 136

Tabla 29: Secuencias de aminoácidos de DBD de eTF

eTF SEQ ID NO:	**DBD SEQ ID NO:**	**Secuencia de DBD**
SEQ ID NO: 270	SEQ ID NO: 393	LEPGEKPYKCPECGKSFSRKDNLKNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPG ALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSRKDNLKNHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 272	SEQ ID NO: 395	LEPGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSPA DLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDELVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSQSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGHLVRHQR THTGEKPYKCPECGKSFSQNSTLTEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 278	SEQ ID NO: 401	LEPGEKPYKCPECGKSFSRNDALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPG HLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDHLTNHQR THTGKKTS
SEQ ID NO: 280	SEQ ID NO: 403	LEPGEKPYKCPECGKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSD NLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSGDLRRHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 281	SEQ ID NO: 404	LEPGEKPYKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRED NLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSTHLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQKSSLIAHQRTHTGEKP

		YKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 282	SEQ ID NO: 405	LEPGEKPYKCPECGKSFSTTGNLTVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSG ELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECG KSFSTSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKP YKCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGKKTS

Tabla 30: Regiones diana de GRN y eTF para favorecer la expresión de GRN

eTF SEQ ID NO:	**secuencia de eTF**	**Sitio diana SEQ ID NO:**
SEQ ID NO: 337	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSDCRDLARHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTTGNLTV HQRTHTGEKPYKCPECGKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS THLDLIRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSHTGHLLEHQRTHTGKKTSKRP AATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDM LGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML	SEQ ID NO: 330
SEQ ID NO: 338	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSRNDTLTEHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVR HQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS TSGELVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTKNSLTEHQRTHTGKKTSKRP AATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDM LGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML	SEQ ID NO: 331
SEQ ID NO: 339	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSTSGNLTEHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSRADNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSPADLTR HQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS QRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCP ECGKSFSHRTTLTNHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVP DYALEEASGSGRADALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDM LGSDALDDFDLDMLINSRSSGSPKKKRKVGSQYLPDTDDRHRIEEKRKR TYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIAVPSRSSASVPKPAPQPYPFTS SLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAPAPPQVLPQAPAPAPAPAMVSA	SEQ ID NO: 336

	LAQAPAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLSEALLQLQFDDEDLG ALLGNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPMLMEYPEAI TRLVTGAQRPPDPAPAPLGAPGLPNGLLSGDEDFSSIADMDFSALLGSG SGSRDSREGMFLPKPEAGSAISDVFEGREVCQPKRIRPFHPPGSPWANR PLPASLAPTPTGPVHEPVGSLTPAPVPQPLDPAPAVTPEASHLLEDPDE ETSQAVKALREMADTVIPQKEEAAICGQMDLSHPPPRGHLDELTTTLES MTEDLNLDSPLTPELNEILDTFLNDECLLHAMHISTGLSIFDTSLF	
SEQ ID NO: 340	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSDSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRA HQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS REDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTSKRP AATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDM LGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 341	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSDSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRA HQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS REDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTSKRP AATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEEASGSGRADALDDFDLDMLGSDA LDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLINSRSSGSPKKKRK VGSQYLPDTDDRHRIEEKRKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIA VPSRSSASVPKPAPQPYPFTSSLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAP APPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQAPAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQ AGEGTLSEALLQLQFDDEDLGALLGNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQLLN QGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQRPPDPAPAPLGAPGLPNGLL SGDEDFSSIADMDFSALLGSGSGSRDSREGMFLPKPEAGSAISDVFEGR EVCQPKRIRPFHPPGSPWANRPLPASLAPTPTGPVHEPVGSLTPAPVPQ PLDPAPAVTPEASHLLEDPDEETSQAVKALREMADTVIPQKEEAAICGQ MDLSHPPPRGHLDELTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDTFLNDECL LHAMHISTGLSIFDTSLF	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 342	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSDSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRA HQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS REDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTSKRP	SEQ ID NO: 38

	AATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEEASGSGRADALDDFDLDMLGSDA LDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLINSRSSGSPKKKRK VGSQYLPDTDDRHRIEEKRKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIA VPSRSSASVPKPAPQPYPFTSSLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAP APPQVLPQAPAPAPAPAMVSALAQAPAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQ AGEGTLSEALLQLQFDDEDLGALLGNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQLLN QGIPVAPHTTEPMLMEYPEAITRLVTGAQRPPDPAPAPLGAPGLPNGLL SGDEDFSSIADMDFSALLGSGSGSRDSREGMFLPKPEAGSAISDVFEGR EVCQPKRIRPFHPPGSPWANRPLPASLAPTPTGPVHEPVGSLTPAPVPQ PLDPAPAVTPEASHLLEDPDEETSQAVKALREMADTVIPQKEEAAICGQ MDLSHPPPRGHLDELTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDTFLNDECL LHAMHISTGLSIFDTSLF	
SEQ ID NO: 343	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSDSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRA HQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS REDNLHTHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTSKRP AATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYALEDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDM LGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDML	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 344	MAPKKKRKVGIHGVPAALEPGEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSHKNALQNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSERSHLRE HQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS QRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSRKDNLKNHQRTHTGEKPYKCP ECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTG EKPYKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHTGKKTSKRPAATKKAGQAKKKKG SYPYDVPDYALEEASGSGRADALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDAL DDFDLDMLGSDALDDFDLDMLINSRSSGSPKKKRKVGSQYLPDTDDRHR IEEKRKRTYETFKSIMKKSPFSGPTDPRPPPRRIAVPSRSSASVPKPAP QPYPFTSSLSTINYDEFPTMVFPSGQISQASALAPAPPQVLPQAPAPAP APAMVSALAQAPAPVPVLAPGPPQAVAPPAPKPTQAGEGTLSEALLQLQ FDDEDLGALLGNSTDPAVFTDLASVDNSEFQQLLNQGIPVAPHTTEPML MEYPEAITRLVTGAQRPPDPAPAPLGAPGLPNGLLSGDEDFSSIADMDF SALLGSGSGSRDSREGMFLPKPEAGSAISDVFEGREVCQPKRIRPFHPP GSPWANRPLPASLAPTPTGPVHEPVGSLTPAPVPQPLDPAPAVTPEASH	SEQ ID NO: 335

	LLEDPDEETSQAVKALREMADTVIPQKEEAAICGQMDLSHPPPRGHLDE LTTTLESMTEDLNLDSPLTPELNEILDTFLNDECLLHAMHISTGLSIFD TSLF	
SEQ ID NO: 345	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHI RIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQL AHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQ CRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIH LRQKDKLEMSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSP HHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGIRHAMGPGTVNGGHPPS ALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHY MPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSS GGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLV IEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 60	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQP QHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARF NNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAA GHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSN SGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRI KELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSCQSQLIKPSRMRKYPNRPSK TPPHERPYACPVESCDRRFSRRDELNVHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSS RRTCRAHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQSSNLVRHTKIHLRQKDRPYAC PVESCDRRFSQLAHLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSTSGNLVRHIRT HTGEKPFACDICGRKFAHRTTLTNHTKIHLRQKDK	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 346	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQP QHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARF NNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAA GHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSN SGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRI KELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSCQSQLIKPSRMRKYPNRPSK TPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSD SGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYAC PVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRT HTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDK	SEQ ID NO: 38

SEQ ID NO: 63	MQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 64	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGQSQLIKPSRMRKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 347	MRPHACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKEKKAEKGGAPSASSAPPVSLAPVVTTCALEMSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGIRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAAGHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSNSGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRIKELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSC	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 348	MSGLEMADHMMAMNHGRFPDGTNGLHHHPAHRMGMGQFPSPHHHQQQQPQHAFNALMGEHIHYGAGNMNATSGVRHAMGPGTVNGGHPPSALAPAARFNNSQFMGPPVASQGGSLPASMQLQKLNNQYFNHHPYPHNHYMPDLHPAA	SEQ ID NO: 38

	GHQMNGTNQHFRDCNPKHSGGSSTPGGSGGSSTPGGSGSSSGGGAGSSN SGGGSGSGNMPASVAHVPAAMLPPNVIDTDFIDEEVLMSLVIEMGLDRI KELPELWLGQNEFDFMTDFVCKQQPSRVSCRPHACPAEGCDRRFSSPAD LTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCGR KFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHK PFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHA KIHLKQKEKKAEKGGAPSASSAPPVSLAPVVTTCA	
SEQ ID NO: 349	MRPHACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNL RVHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCD RRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKP FACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKEKLEMADHLMLAEGYRLVQRPP SAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAF GPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPA PSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQS EFDCFSDLGSAPPAGSVSC	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 350	MAADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRG APLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYP GRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLE LELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSCGGSGGGSGRPH ACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHI RTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFS QRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACE FCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKEKLEMADHLMLAEGYRLVQRPPSAAA AHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPS SFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAA APPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDC FSDLGSAPPAGSVSC	SEQ ID NO: 38

Tabla 31: DBD de ejemplo de los eTF para favorecer la expresión de GRN

eTF SEQ ID NO:	DBD SEQ ID NO:	Secuencia DBD

SEQ ID NO: 337	SEQ ID NO: 377	LEPGEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS DCRDLARHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTTGNLTVHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSDPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTHLDLIRH QRTHTGEKPYKCPECGKSFSHTGHLLEHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 338	SEQ ID NO: 378	LEPGEKPYKCPECGKSFSRNDTLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS DPGALVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSTSGELVRH QRTHTGEKPYKCPECGKSFSTKNSLTEHQRTHTGKKTSKRPAATKK AGQAKKKK
SEQ ID NO: 339	SEQ ID NO: 379	LEPGEKPYKCPECGKSFSTSGNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS RADNLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQRANLRAH QRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKS FSHRTTLTNHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 340	SEQ ID NO: 380	LEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS DSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTH QRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 341	SEQ ID NO: 381	LEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS DSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTH QRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 342	SEQ ID NO: 382	LEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS DSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTH QRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 343	SEQ ID NO: 383	LEPGEKPYKCPECGKSFSSPADLTRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS DSGNLRVHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQLAHLRAHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSQRANLRAHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSREDNLHTH QRTHTGEKPYKCPECGKSFSRSDNLVRHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 344	SEQ ID NO: 384	LEPGEKPYKCPECGKSFSTSHSLTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFS HKNALQNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSERSHLREHQRTHTGEKPY KCPECGKSFSSKKALTEHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQRANLRAH

		QRTHTGEKPYKCPECGKSFSRKDNLKNHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSNLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQSSSLVRHQRTHTGEKPYKCPECGKSFSQAGHLASHQRTHTGKKTS
SEQ ID NO: 345	SEQ ID NO: 385	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKD
SEQ ID NO: 346	SEQ ID NO: 386	RKYPNRPSKTPPHERPYACPVESCDRRFSSPADLTRHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACDICGRKFAQLAHLRAHTKIHLRQKDRPYACPVESCDRRFSQRANLRAHIRIHTGQKPFQCRICMRNFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACDICGRKFARSDNLVRHTKIHLRQKDK
SEQ ID NO: 347	SEQ ID NO: 387	HACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKE
SEQ ID NO: 348	SEQ ID NO: 388	HACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKE
SEQ ID NO: 349	SEQ ID NO: 389	HACPAEGCDRRFSSPADLTRHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSDSGNLRVHIRTHTGEKPFACEFCGRKFAQLAHLRAHAKIHLKQKEHACPAEGCDRRFSQRANLRAHLRIHTGHKPFQCRICMRSFSREDNLHTHIRTHTGEKPFACEFCGRKFARSDNLVRHAKIHLKQKE
SEQ ID NO: 350	SEQ ID NO: 390	MADHLMLAEGYRLVQRPPSAAAAHGPHALRTLPPYAGPGLDSGLRPRGAPLGPPPPRQPGALAYGAFGPPSSFQPFPAVPPPAAGIAHLQPVATPYPGRAAAPPNAPGGPPGPQPAPSAAAPPPPAHALGGMDAELIDEEALTSLELELGLHRVRELPELFLGQSEFDCFSDLGSAPPAGSVSC

Ejemplos

[00330] Los siguientes ejemplos se incluyen para describir

adicionalmente algunos aspectos de la presente descripción y no se deben usar para limitar el alcance de la invención.

Ejemplo 1

Incremento de expresión génica en células HEK293T

[00331] Se transfectaron células HEK293T con ADN de plásmido que contiene un gen de luciferasa bajo el control de uno de varios elementos reguladores diferentes, es decir, control sin promotor; SCP; CMV; SEQ ID NO: 178 enlazada de manera operativa a minCMV; SEQ ID NO: 182 enlazada de manera operativa a minCMV; y CAG. Los valores normalizados de luciferasa de cada construcción se ilustran en la **Figura 1**. Los valores normalizados de actividad por tamaño de cada construcción se ilustran en la **Figura 2**. Las construcciones que tienen un promotor minCMV enlazado a un elemento regulador de SEQ ID NO: 178 o 182 activaron niveles más altos de expresión de luciferasa que minCMV solo y SCP solo.

[00332] Este experimento indicó que y SEQ ID NO: 178 y 182 son los RE que activan la alta expresión génica en una célula. Estos RE se pueden adicionar a un casete de expresión descrito en la presente que comprende un activador transcripcional que no se presenta de manera natural de SCN1A para incrementar la expresión del activador transcripcional en una célula, que da por resultado una expresión incrementada del gen SCN1A endógeno. En algunos casos, uno o más RE seleccionados de SEQ ID NO: 178 y/o 182 se enlazan de

manera operativa a un activador transcripcional para incrementar la expresión de SCN1A en una célula. Estos elementos reguladores se pueden adicionar a un casete de expresión en la dirección 5’ y/o en la dirección 3’ de un activador transcripcional en un casete de expresión.

Ejemplo 2

Selectividad para Neuronas de Parvalbúmina

[00333] La selectividad para células de parvalbúmina, un tipo de neuronas GABAérgicas, se determinó usando imagenología fluorescente. Los vectores AAV que contienen eGFP enlazadas de manera operativa a un promotor de control (EF1α) o un RE selectivo a PV y los vectores AAV que contienen un tdTomato dependiente de CRE se coinyectaron en un ratón GAD2-IRES-CRE (Jackson Labs).

[00334] Se les puso una infusión a los ratones de manera bilateral con 1.5 µL de vector AAV (5^{12} a 1^{13} gc/ml) en el hipocampo dorsal y ventral a una velocidad de 0.3 µL/min con un período de descanso de 4 min después de inyección. Los ratones se anestesiaron para la inyección usando isoflurano (2%, 800 mL/min O_2). Se uso bupivacaína/epinefrina para analgesia local y carprofeno para analgesia peri//postoperatoria. Los animales se colocaron en un marco estereotóxico (Kopf instruments, EUA), usando las siguientes coordenadas para el hipocampo dorsal (AP -2.0 mm, lateral ±1.5, DV -1.4 mm de duramadre) y el hipocampo ventral (AP -

3.1 mm, lateral ±2.8, DV -3.8 mm de duramadre). Se usó una jeringa Hamilton (modelo # 80308; jeringa de 10 µL con una correspondiente aguja de punta roma de 30 ga) con el micromanipulador estereotáctico, para designar y perforar los orificios de broca. La broca se usó solo para penetrar el hueso. Después de la perforación, la cánula de infusión se bajó al cerebro hasta la profundidad de la ubicación deseada. Los ajustes de inyección para la ultra microbomba III con controlador micro4 (World Precision Instruments) fueron: volumen de inyección: 1.5 µL; velocidad de inyección: 0.3 µL/min. La aguja se bajó lentamente (durante aproximadamente 1 minuto) a DV -0.1 mm por debajo de las coordenadas de infusión (-1.5 mm para el hipocampo dorsal y -3.9 mm para el hipocampo ventral y luego se elevó a DV -1.4 o -3.8, respectivamente). Antes de la infusión, se dejó que la aguja se equilibrara durante 1 minuto. Una vez que se completó el suministro, la aguja se dejó durante 4 min y luego se retiró durante aproximadamente 1 min. Una vez que se completaron las cuatro infusiones, la incisión cutánea se cerró con suturas. Los ratones tratados se sometieron a controles de salud diarios durante el resto del estudio y se pesaron una vez por semana para controlar el peso corporal.

[00335] Para recolección de tejido, se aplicó eutanasia a los ratones mediante sobredosis de isoflurano y se perfundió con paraformaldehído al 4% (PFA). Se extrajo una porción de

tejido cerebral que contiene el hipocampo y se colocó en PFA al 4% a 4°C durante al menos 12 horas. Entonces el tejido cerebral se deshidrató en sacarosa al 30% (en solución salina amortiguada con fosfato) a 4°C hasta que el tejido se hundió al fondo del tubo. El tejido cerebral se incrustó en Tissue-Tek OCT para seccionarse en un criostato. El tejido cerebral seccionado se tiñó para eGFP y tdTomato usando procedimientos inmunohistoquímicos estándares con anticuerpo policlonal de conejo anti-RFP (Rockland Antibodies and Assay) y anticuerpo policlonal de pollo anti-eGFP (Aves Labs).

[00336] La **Figura 3** ilustra imágenes representativas de ratones tratados con un vector AAV que contiene eGFP y ya sea un elemento selectivo a PV (SEQ ID NO: 183 o SEQ ID NO: 184) o el promotor de control EF1α constitutivo (SEQ ID NO: 186), junto con un segundo vector AAV que contiene un indicador fluorescente tdTomato cuya expresión depende de la actividad de Cre recombinasa. GAD2 se expresa de manera selectiva en neuronas GABAérgicas, incluyendo neuronas de PV, por lo tanto, la expresión de tdTomato identifica neuronas GABAérgicas (**Figura 3**, fila inferior).

[00337] La **Figura 4** ilustra la eficiencia de expresión en células de PV para cada elemento regulador o promotor. La expresión de eGFP activada por EF1α, un promotor constitutivo, mostró una eficiencia de expresión de aproximadamente 40%. En contraste, la expresión de eGFP

activada por SEQ ID NO: 183 (que comprende un promotor que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 185) o SEQ ID NO: 184 mostró una eficiencia de expresión de aproximadamente 90%, que muestra una eficiencia de expresión mucho mayor que el promotor EF1α.

[00338] La **Figura 5** ilustra especificidad de expresión de las diferentes secuencias reguladoras, SEQ ID NO: 183 y 184 ambas activaron la expresión de eGFP en células de PV con aproximadamente 75% de especificidad, en comparación con el promotor EF1α que mostró menos de 10% de especificidad para células de parvalbúmina (PV).

[00339] Estos experimentos confirmaron la selectividad de SEQ ID NO: 183 y 184 elementos reguladores para neuronas GABAérgicas/de PV y ensayos ilustrados que se pueden usar para medir selectividad para células GABAérgicas/de PV. Uno o más elementos reguladores de SEQ ID NO: 183-184 se pueden incluir en un casete de expresión descrito en la presente para incrementar la expresión selectiva de un activador transcripcional en células GABAérgicas/de PV en comparación con células no GABAérgicas para reducir al mínimo los efectos fuera de diana, como se determina usando los ensayos descritos anteriormente. En algunos casos, uno o más RE selectivos para células de PV se usan en un casete de expresión para incrementar la expresión selectiva de un activador transcripcional en células de PV en comparación con

células no de PV, usando ensayos similares a aquellos descritos anteriormente.

Ejemplo 3

Identificación de regiones diana capaces de favorecer la expresión de SCN1A usando activadores transcripcionales específicos de SCN1A

[00340] A fin de identificar regiones del genoma capaces de favorecer la expresión de SCN1A endógeno, se diseñaron diferentes factores de transcripción modificados (ya sea nucleasas de dedos de zinc o construcciones de ARNg/daCas9) de modo que tomaran como diana diferentes regiones del genoma como se expone en **las Tablas 26 -29** anteriores. Para construcciones de ARNg/daCas9, el ARNg tuvo la misma secuencia que la región diana debido a que el ARNg se diseñó para tomar como diana la hebra genómica complementaria. La secuencia de la proteína dCas9 es SEQ ID NO: 104, que también es SEQ ID NO: 103 con etiqueta HA y NLS.

[00341] Las células HEK293 se cultivaron por métodos estándar y se transfectaron (FugeneHD, Promega) con plásmido de 3 ug que porta un factor de transcripción modificado o construcción de control por concavidad de una placa de 6 concavidades. Las células se transfectaron con plásmidos que expresan las construcciones mostradas anteriormente en la **TABLA 26-29**. 48 horas después de la transfección, se recolectaron células y se aisló el ARN (Qiagen RNeasy Mini

kit) y se trató con DNasa. El ARN (3ug) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 66 °C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra SCN1A (5'-TGTCTCGGCATTGAGAACATTC-3' (SEQ ID NO: 190); 5'-ATTGGTGGGAGGCCATTGTAT-3' (SEQ ID NO: 191)) para cuantificar los niveles de transcripto SCN1A endógeno, y niveles relativos de expresión de SCN1A se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC'-3' (SEQ ID NO: 192); 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3' (SEQ ID NO: 193)). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control.

[00342] Los resultados se muestran en **Figura 6** y en la **TABLA 32** a continuación como veces de cambio de transcripción de SCN1A con respecto a condiciones de control (por ejemplo, construcción indicadora de EGFP-KASH).

TABLA 32: Efecto que los diferentes sitios diana genómicos y los correspondientes eTF tienen en la transcripción

Sitio diana SEQ ID NO:	Secuencia diana reconocida por eTF	Media	Prueba T
197	ggtacgggcaaagatttcttg	1.36801947	0.48762102
198	tttgcccgtaccaaagtcttg	1.26748653	0.71262289

201	ACACAATGAGCCACCTACAAG	1.31187425	0.42605224
202	GTGGCTCATTGTGTGTGTGCC	1.25217773	0.26572657
203	AGAAAGCTGATACAGATACAA	1.7542842	0.34519408
203	AGAAAGCTGATACAGATACAA	1.45636874	0.44464045
207	TTCTCAGTTTTGAAATTAAAA	1.64498972	0.21705582
208	CATATCCCTGCAGGTTCAGAA	1.75688991	0.28984533
209	TGGATTCTCTTCTGAACCTGC	2.27026665	0.43195546
210	agagagagagagagagagaga	2.05701745	0.42409102
211	TGGTCTCATTCTTTTTGTGGG	1.71471378	0.32104302
107	aaggctgtctaggtcaagtgt	1.36378425	0.18753821
35	ctaggtcaagtgtaggag	5.12090848	0.0096628
257	GGTCAAGTGTAGGAGACA	1.52068773	0.62403349
224	tgttcctccagattaacactt	1.63040825	0.46710683
225	ATTACAGTTCTGTCAGCATGC	1.34500323	0.32186367
226	ATCATCTGTAACCATCAAGGA	2.58328006	0.0748197
227	TCCTGCCTACTTAGTTTCAAG	1.97097781	0.25980859
228	TGCTGAGGCAGGACACAGTGT	2.4290169	0.30364553
229	ACAAAGTAAGTGTCAGTGTGG	1.30739959	0.72725347
230	CTGACACTTACTTTGTCTAAA	1.95513108	0.02069095
231	ATAATAGTTGTGTCTTTATAA	1.55783618	0.29846459
232	CGATATTTTCATGGATTCCTT	1.7735976	0.21954265
233	AAAACTGGAACCGCATTCCCA	2.08698135	0.0454403
234	TGTACAAGCAGGGCTGCAAAG	1.4663605	0.02946062
235	AAAGGGGAATGGGAACACCCG	1.16749665	0.65768346
236	ATGTTCAAGGTGCAGAAGGAA	2.04547409	0.09880194
237	ttcaacaagctcccaagaagt	1.46929899	0.24465271
238	GTTAACAAATACACTAAACAC	1.37399196	0.33638238
109	gctgatttgtattaggtacca	22.4892633	0.09291316
36	taggtaccatagagtgag	25.4730028	0.14942042
108	gatgaagccgagaggatactg	18.7579211	0.13148732
136	gaggatactgcagaggtc	8.6766618	0.16432794
247	TGTTTGCTCAAACGTGCACCA	2.13402102	0.25583999

248	AAATATGTACCACAAGAAATG	2.29522738	0.41829497
249	TATCTGGTTTCTCTCACTGCT	1.44542116	0.0947106
250	AAATAAGACATGAAAACAAGA	1.27016182	0.32368695
251	ATTGCAAAGCATAATTTGGAT	1.42246971	0.18117243

Ejemplo 4

Expresión relativa de SCN1A de un casete de expresión

[00343] Este ejemplo describe la expresión relativa de SCN1A de diferentes casetes de expresión que comprenden un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural que incrementa la expresión del gen SCN1A. El gen SCN1A pertenece a una familia de genes que proporcionan instrucciones para elaborar canales de iones de sodio. Estos canales, que transportan átomos de sodio positivamente cargados (iones de sodio) a las células, juegan un papel clave en la capacidad de una célula para generar y transmitir señales eléctricas. Para probar el casete de expresión, las células HEK293 se cultivaron por métodos estándar y se transfectaron (PEI) con 3 µg de plásmido por concavidad de una placa de 6 concavidades. 48 horas después de la transfección, se recolectaron células y se aisló el ARN (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3 µg) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England

Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 66 °C, 15 seg a 72°C]).

[00344] Se construyeron diferentes casetes de expresión, incluyendo un casete de expresión de control que comprende un transgén indicador de eGFP y carece de un activador transcripcional; y casetes de expresión A-H como se describe en la **TABLA 17** anterior. Para los casetes de expresión A-F, cada uno comprendió un dominio de unión a ADN que no se presenta de manera natural que comprendió de seis a nueve dedos de zinc de acuerdo con SEQ ID NO: 103, 131-134 enlazdas a ya sea un dominio de activación transcripcional VP64 que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 95 o un dominio de activación transcripcional VPR que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 114. Estos activadores transcripcionales que no se presentan de manera natural se modificaron para unirse a un sitio diana que tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 35-37, 107-108, o 136, o una región genómica que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 35-37, 107-108 o 136. Cada casete de expresión G y H comprendió un dominio de unión a ADN dSaCas9 que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 103 enlazada a un dominio de activación transcripcional VP64 que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 95. Cada casete de expresión G y H también comprendió un ARNg para tomar como diana el activador transcripcional que no se presenta de manera natural, en donde cada ARNg comprendió una secuencia

seleccionada de SEQ ID NO: 107-108. Cada casete de expresión también comprendió un RE que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 178.

[00345] Se usaron cebadores contra SCN1A (5'-TGTCTCGGCATTGAGAACATTC-3' (SEQ ID NO: 190); 5'-ATTGGTGGGAGGCCATTGTAT-3' (SEQ ID NO: 191)) para cuantificar los niveles de transcripto SCN1A endógeno, y niveles relativos de expresión de SCN1A se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC'3' (SEQ ID NO: 192); 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3' (SEQ ID NO: 193)).

[00346] La **Figura 7** ilustra la expresión relativa de SCN1A para células transfectadas con diferentes casetes de expresión, presentada como veces de cambio (Log_{10}) con respecto a la construcción de eGFP de control. La expresión de los activadores transcripcionales que no se presentan de manera natural de los casetes de expresión A-H dio por resultado un incremento en la expresión génica de SCN1A en células HEK293 con respecto al casete de expresión de control.

[00347] La **Figura 8** ilustra el casete de expresión A que comprende un activador transcripcional que no se presenta de manera natural que se usó para incrementar la expresión del gen SCN1A, en comparación con otros genes, en células HEK293. Además, se usaron cebadores contra TTC21B (5'-

GGTCACGTACAGCTTCGCAT-3′ (SEQ ID NO: 283); 5′-CTGGTTTCTGGCTCGTGGAG-3′ (SEQ ID NO: 284)), SCN9A (5′-AAGCCCCAAAGCCAAGCAG-3′ (SEQ ID NO: 285); 5′-AGGTGTGGCATTGAAACGG-3′ (SEQ ID NO: 286)), GRN (5′-ATGGTCAGTTCTGCCCTGTG-3′(SEQ ID NO: 287); 5′-CGGTAAAGATGCAGGAGTGGC-3′ (SEQ ID NO: 288)), UTRN (5′-TGACAATGGGCAGAACGAAT-3′ (SEQ ID NO: 289); 5′-TGCAGCACTCTGTTGACGTT (SEQ ID NO: 290)), y TTN (5′-TGTTGCCACTGGTGCTAAAG-3′ (SEQ ID NO: 291); 5′-ACAGCAGTCTTCTCCGCTTC-3′ (SEQ ID NO: 292)) para cuantificar los niveles de transcripciones TTN, UTRN, GRN, SCN9A y TTC21B endógenas, y se determinaron niveles relativos de expresión de estos genes por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia, usando cebadores que tienen secuencias de SEQ ID NO: 192-193.

[00348] La **Figura 8** ilustra la expresión relativa de transcripciones SCN1A, TTC21B, SCN9A, GRN, UTRN y TTN endógenas presentadas como veces de cambio con respecto a la condición de control. El casete de expresión A, como se describió anteriormente, fue capaz de incrementar específicamente la expresión del gen SCN1A, o la proteína Nav1.1, en comparación con los otros genes probados. Esto indicó que el sitio diana reconocido por el activador transcripcional del casete de expresión A fue específico para el gen SCN1A, dando por resultado de este modo un incremento

en la expresión génica de SCN1A en células HEK293.

Ejemplo 5

Activación de SCN1A

[00349] Se cultivaron células HEK293 por métodos estándar y se transfectaron (FuGene HD, Promega) con 3 ug de cada activador probado o un control de EGFP. 48 horas después de la transfección, se recolectaron células y se aisló el ARN (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3ug) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 68 °C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra SCN1A humano (5’-TGTCTCGGCATTGAGAACATTC-3’ (SEQ ID NO: 190); 5’-ATTGGTGGGAGGCCATTGTAT-3’ (SEQ ID NO: 191)) para cuantificar los niveles de transcripto EGFP activado por indicador, y niveles relativos de expresión de EGFP se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5’-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3’ (SEQ ID NO: 192); 5’-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3’ (SEQ ID NO: 193)). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control. Ver **Figura 12B** y **Figura 13B**. SEQ ID NO: 6, 7 y 9 son los eTF derivados de proteína EGR1 humana y se modifican para unirse a un sitio diana cerca o en el gen SCN1A endógeno, en donde el sitio diana es SEQ ID NO: 35-37. En

comparación con el control de EGFP indicador, los eTF que comprende cualquiera de SEQ ID NO: 6, 7 o 9 dieron por resultado una expresión relativa de SCN1A de al menos 2 veces, 7 veces o 20 veces, respectivamente.

Ejemplo 6

Favorecimiento de expresión de SCN1A endógeno en células HEK293 usando factores de transcripción específicos de SCN1A

[00350] Las células HEK293 se cultivaron por métodos estándar y se transfectaron (FugeneHD, Promega) con plásmido de 3 ug que porta un factor de transcripción modificado o construcción de control de EGFP por concavidad de una placa de 6 concavidades. Las células se transfectaron con plásmidos que contienen las construcciones mostradas a continuación en la **TABLA 33**. 48 horas después de la transfección, se recolectaron células y se aisló el ARN (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3ug) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 66 °C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra SCN1A (5’-TGTCTCGGCATTGAGAACATTC-3’ (SEQ ID NO: 190); 5’-ATTGGTGGGAGGCCATTGTAT-3’ (SEQ ID NO: 191)) para cuantificar los niveles de transcripto SCN1A endógeno, y niveles relativos de expresión de SCN1A se determinaron por el método

delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5’-ACCACAGTCCATGCCATCAC’3’ (SEQ ID NO: 192); 5’-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3’ (SEQ ID NO: 193)). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control (ver **Figura 15**). La construcción de control consistió en EGFP expresada bajo el control de un promotor que tiene una secuencia de acuerdo con SEQ ID NO: 178. La administración de factores de transcripción modificados indujo grados variables de favorecimiento de la expresión de transcripto SCN1A endógeno con respecto a la condición de EGFP.

TABLA 33. Construcciones usadas en Ejemplo 6 y Figura 15.

eTF SEQ ID NO:	
Casete de expresión D en TABLA 17	SEQ ID NO: 15
Casete de expresión B en TABLA 17	SEQ ID NO: 364
Casete de expresión C en TABLA 17	SEQ ID NO: 9
Casete de expresión E en TABLA 17	SEQ ID NO: 8
SEQ ID NO: 67	SEQ ID NO: 7
SEQ ID NO: 68	SEQ ID NO: 295
SEQ ID NO: 88	SEQ ID NO: 14
SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 296
SEQ ID NO: 87	SEQ ID NO: 297
SEQ ID NO: 83	SEQ ID NO: 13
SEQ ID NO: 84	SEQ ID NO: 298

SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 299
SEQ ID NO: 74	
SEQ ID NO: 70	
SEQ ID NO: 71	

Tabla 34: Construcciones usadas en Ejemplo 6 y Figura 15.

eTF SEQ ID NO:	**DBD SEQ ID NO:**
SEQ ID NO: 364	SEQ ID NO: 406
SEQ ID NO: 295	SEQ ID NO: 407
SEQ ID NO: 296	SEQ ID NO: 408
SEQ ID NO: 299	SEQ ID NO: 409

Ejemplo 7

Favorecimiento de expresión de SCN1A endógeno en neuronas GABA usando factores de transcripción específicos de SCN1A

[00351] las neuronas GABA iCell (Cellular Dynamics) se colocaron en placa en una placa de 6 concavidades (~1E6 células/concavidad) y se mantuvieron por protocolo recomendado por el fabricante. 72 h después de la colocación en placa, AAV recombinante (serotipo AAV-DJ) que expresa EGFP o un activador (SEQ ID NO: 366 en **la Figura 16A** o SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 15 en **la Figura 16B**) bajo el control de un promotor ubicuo (promotor CBA) se adicionó al medio de cultivo en aproximadamente copias genoma 2E11 por concavidad concavidad. Una semana (**Figura 16A**) o dos semanas (**Figura 16B**) después de la infección, se aisló ARN de células

cultivadas (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN recuperado se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 66 °C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra SCN1A (5’-TGTCTCGGCATTGAGAACATTC-3’ (SEQ ID NO: 190); 5’-ATTGGTGGGAGGCCATTGTAT-3’ (SEQ ID NO: 191)) para cuantificar los niveles de transcripto SCN1A endógeno, y niveles relativos de expresión de SCN1A se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5’-ACCACAGTCCATGCCATCAC’3’ (SEQ ID NO: 192); 5’-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3’ (SEQ ID NO: 193)). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control (ver **Figura 16A** y **Figura 16B**) La expresión activada por AAV de factores de transcripción modificados produjo favorecimiento significativo de la expresión de transcripto SCN1A endógeno en neuronas GABA derivadas de iPS cultivadas.

Ejemplo 8

Favorecimiento específico de la expresión de SCN1A endógeno en neuronas GABA usando un factor de transcripción específico de SCN1A

[00352] las neuronas GABA iCell (Cellular Dynamics) se colocaron en placa en una placa de 6 concavidades (~1E6 células/concavidad) y se mantuvieron por protocolo

recomendado por el fabricante. 72h después de la colocación en placa, AAV recombinante (serotipo AAV-DJ) que expresa EGFP o activador (SEQ ID NO: 366, que comprende un DBD de dedo de zinc fusionado a un TAD de VPR activado por un promotor CBA) bajo el control de un promotor CBA se adicionó al medio de cultivo a aproximadamente copias de genoma 2E11 por concavidad.

[00353] Una semana después de la infección, se aisló el ARN de células cultivadas (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. Las bibliotecas de ARNseq se prepararon del ARN recuperado, usando el kit de biblioteca de ARNm TruSeq Stranded (Illumina) y se secuenciaron en una Illumina NextSeq (secuenciación de extremo apareado de 2 x 75 ciclos). Las lecturas de secuenciación se alinearon con el genoma humano (RNASTAR) y se realizó análisis de expresión diferencial con DESeq2. Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a muestras de control (AAVDJ-CBA-EGFP) (ver **Figura 17**). Los resultados se muestran en **LA TABLA 35** y la **Figura 17** ilustra la expresión relativa de SCN1A endógeno y los 40 transcriptos génicos vecinos más cercanos presentados como veces de cambio con respecto a la condición de control. SEQ ID NO: 366, como se describió anteriormente, fue capaz de incrementar específicamente la expresión del gen SCN1A, o la proteína Nav1.1, en comparación con los otros genes examinados. Esto indicó el sitio diana reconocido por el

activador transcripcional de SEQ ID NO: 366 fue específico para el gen SCN1A, dando por resultado de este modo un incremento en la expresión génica de SCN1A en neuronas GABA.

Tabla 35. Efectos en la transcripción de SCN1A endógeno y los 40 genes vecinos más cercanos en neuronas GABA tratadas con un factor de transcripción específico de SCN1A (SEQ ID NO: 366).

Nombre génico	Inicio Chr 2	Final Chr 2	Hebra hr	Veces de cambio vs. Control
PLA2R1	160788518	160919121	-	0.16367458
ITGB6	160956176	161128399	-	0.20679884
RBMS1	161128661	161350305	-	1.63514667
TANK	161993418	162092732	+	0.90946407
PSMD14	162164548	162268228	+	0.92699237
TBR1	162272604	162282381	+	0.53199642
SLC4A10	162280842	162841792	+	1.89407328
DPP4	162848750	162931052	-	2.82345284
FAP	163027193	163101661	-	2.26977379
IFIH1	163123588	163175213	-	1.46146481
GCA	163175349	163228105	+	2.58702426
FIGN	164449905	164592522	-	0.46785861
GRB14	165349321	165478358	-	0.5631965
COBLL1	165510133	165700189	-	0.43199257
SLC38A11	165752695	165812035	-	4.06730119
SCN3A	165944031	166060577	-	1.0807866
SCN2A	166095911	166248818	+	1.24475196
CSRNP3	166326156	166545917	+	0.82971233
GALNT3	166604100	166651192	-	0.33804418
TTC21B	166713984	166810353	-	1.58661143
SCN1A	166845669	166984523	-	62.9552975

SCN9A	167051694	167232503	-	1.71659087
SCN7A	167260082	167350757	-	0.29331967
B3GALT1	168675181	168730551	+	0.64436013
STK39	168810529	169104651	-	1.19821739
CERS6	169312371	169631644	+	0.86828378
NOSTRIN	169643048	169722024	+	1.82142718
SPC25	169690641	169769881	-	0.86880697
ABCB11	169779447	169887832	-	3.1441368
DHRS9	169921298	169952677	+	1.10381777
BBS5	170335687	170382432	+	0.65476347
KLHL41	170366211	170382772	+	0.87373377
FASTKD1	170386258	170430385	-	1.02786927
PPIG	170440849	170497916	+	1.09866236
CCDC173	170501934	170550943	-	0.67290779
PHOSPHO2	170550974	170558218	+	0.91339152
KLHL23	170550997	170633499	+	0.73926347
SSB	170648442	170668574	+	1.00631994
METTL5	170666590	170681441	-	1.21271497
UBR3	170683967	170940641	+	1.21350908
MYO3B	171034654	171511681	+	0.52839217

Ejemplo 9

Expresión de SCN1A a partir de un casete de expresión *in vivo*

[00354] Para probar la expresión de activadores transcripcionales de SCN1A *in vivo*, se generaron vectores AAV9 recombinantes por Vector Biolabs (Malvern, PA). Se les puso una infusión a ratones C57Bl/6 machos (N=5 por grupo, 7-8 semanas de edad) de manera bilateral con 1.5ul de vector AAV purificado en el hipocampo dorsal (AP -2.0 mm, lateral

±1.5, DV -1.4 mm de duramadre) e hipocampo ventral (AP -3.1 mm, lateral ±2.8, DV -3.8 mm de duramadre), para un total de 4 sitios de inyección. Se administró AAV a una velocidad de 0.3 ul/minuto con un período de descanso de 4 m después de cada inyección. Cuatro semanas después del tratamiento, se aplicó eutanasia a los ratones y se diseccionó el tejido de hipocampo. Para cada grupo, se recolectó tejido de tanto tejido de hipocampo izquierdo como derecho, se mezclaron para homogeneización en la mayoría de los animales (N=4), excepto para un animal, donde solo se recolectó y homogeneizó el hipocampo izquierdo. Se aisló ARN del homogenado (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3 µg) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR para la expresión de SCN1A de ratón usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: 30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 64 °C, 15 seg a 72°C]. Se usaron cebadores contra SCN1A de ratón (5’-CAAAAAAGCCACAAAAGCCT-3’ (SEQ ID NO: 374); 5’-TTAGCTCCGCAAGAAACATC-3’ (SEQ ID NO: 375)) para cuantificar los niveles de transcripto SCN1A endógeno, y los niveles relativos de expresión de SCN1A *in vivo* se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia, usando los mismos cebadores GAPDH como se describe en el Ejemplo 1 anterior.

[00355] **La Figura 18A** y **Figura 18B** ilustran los resultados medios de cinco animales, cada uno inyectado con una construcción de AAV9. La construcción de control de eGFP comprendió un transgén indicador de eGFP. El casete de expresión A (ver **TABLA 17**) comprendió un activador transcripcional que reconoció una secuencia diana que comprende SEQ ID NO: 35, como se describe en la **TABLA 17** anterior. **La Figura 18A** ilustra la expresión relativa de SCN1A *in vivo*. **La Figura 18B** ilustra el cambio en la expresión de SCN1A *in vivo* como un porcentaje de expresión media de eGFP. Estos resultados indicaron que el activador transcripcional de SCN1A del casete de expresión A dio por resultado aproximadamente 20%-30% de favorecimiento de la expresión de SCN1A *in vivo*.

[00356] Estos casetes de expresión se pueden adaptar para su uso en humanos para tratar síndrome de Dravet, epilepsia, convulsiones, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o cualquier otra enfermedad o condición asociada con una deficiencia y/o actividad deteriorada de SCN1A.

Ejemplo 10

Favorecimiento de la expresión de transcripto SCN1A endógeno en hipocampo de ratón WT usando factor de transcripción específico de SCN1A determinado por qPCR

[00357] El vector AAV9 recombinante se generó por Vector Biolabs (Malvern, PA). Se les puso una infusión a ratones

C57Bl/6 machos (N=5 por grupo, 7-8 semanas de edad) de manera bilateral con 1.5 ul de vector AAV purificado en el hipocampo dorsal (AP -2.0 mm, lateral ±1.5, DV -1.4 mm de duramadre) e hipocampo ventral (AP -3.1 mm, lateral ±2.8, DV -3.8 mm de duramadre), para un total de 4 sitios de inyección. Se usaron vectores AAV que contienen diferentes factores de transcripción específicos a SCN1A: Casete de expresión A en **TABLA 17** (**Figura 19A**), Casete de expresión B (**Figura 19B**) y SEQ ID NO: 366 y SEQ ID NO: 365 (**Figura 19C**) y en comparación con un vector de control (EGFP-KASH activado por el mismo promotor) (**Figura 19A-C**) y EGFP-KASH activado por un promotor CBA (**Figura 19C**).

[00358] Se administró AAV a una velocidad de 0.3 ul/minuto con un período de descanso de 4 minutos después de cada inyección. Cuatro semanas después del tratamiento, se aplicó eutanasia a los ratones y se diseccionó el tejido de hipocampo. Para cada grupo, se recolectó tejido de tanto tejido de hipocampo izquierdo como derecho, se mezclaron para homogeneización en la mayoría de los animales (N=4), excepto para un animal, donde solo se recolectó y homogeneizó el hipocampo izquierdo. Se aisló ARN del homogenado (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3 µg) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR para SCN1A de ratón (cebador directo

mNav1.1: 5’-CAAAAAAGCCACAAAAGCCT-3’ (SEQ ID NO: 293) y cebador inverso mNav1.1: 5’-TTAGCTCCGCAAGAAACATC-3’ (SEQ ID NO: 294)) usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 64 °C, 15 seg a 72°C]).

[00359] La inyección directa de AAV que porta cada una de las construcciones de factor de transcripción modificadas dio por resultado favorecimiento de la expresión de transcripto SCN1A endógeno en el tejido de hipocampo de ratón.

Ejemplo 11

Ensayo de convulsiones hipertérmicas (HTS) en modelo en ratón de síndrome de Dravet

[00360] El tratamiento de síndrome de Dravet y/o síntomas del mismo usando los casetes de expresión se probó en la línea de ratones Scn1a^{tm1Kea}. Esta línea de ratones es un modelo de ratón establecido para el síndrome de Dravet. Las líneas de ratones Scn1a^{tm1Kea} no requieren recombinasa CRE. El ratón Scn1a^{tm1Kea} (disponible en el Laboratorio Jackson; descrito en Hawkins et al., Scientific Reports, vol. 7: 15327 (2017)) comprende una supresión o eliminación del primer exón codificador de SCN1A. Los ratones homocigotos para el alelo inactivado SCN1A se caracterizan por temblores, ataxia, convulsiones y mueren en el día 16 postnatal. Los ratones heterocigotos en el antecedente C57BL/6 desarrollan convulsiones espontáneas y un gran porcentaje muere en

cuestión de semanas. Esta variedad de ratón se puede usar para estudiar la seguridad y eficacia del tratamiento de epilepsia y síndrome de Dravet. Ver Miller et al., Genes Brain Behav. 2014 Feb;13(2):163-72 para información adicional.

[00361] Para evaluar la eficacia de los activadores transcripcionales en la línea de ratones Scn1a^{tm1Kea}, se dosificaron camadas de crías producidas a partir de machos Scn1a +/- cruzados con hembras C57Bl/6J reproductoras con vector AAV a través de ICV bilateral a P1. Los ratones se dosificaron con las construcciones resumidas en la **TABLA 36** a continuación. Los ratones se dejaron inalterados con su madre hasta el destete a P18 y luego nuevamente se dejaron inalterados hasta P26-P28 cuando se inició el ensayo HTS. Se destetaron camadas separadas de ratones P1 dosificados a P18 y se observó mortalidad diaria. La inducción de convulsiones por hipertermia se realizó en ratones HET P26-P28 y WT Scn1a en un antecedente 129Stac X C57BL/6 mezclado. Antes del ensayo, los ratones tenían una sonda de temperatura rectal lubricada (Ret-4) insertada y conectada a un módulo de control de temperatura (TCAT 2DF, Physitemp) que se conectó en serie con una lámpara de calentamiento (HL-1). Luego, los ratones se colocaron en un vaso de precipitados de vidrio grande y se dejaron equilibrar brevemente con el entorno. Después de esto, la temperatura corporal se incrementó por ~

0.5° C cada 2 minutos hasta el inicio de la primera convulsión tónico-clónica acompañada de pérdida de postura o hasta que se alcanzó 43°C. Si un ratón experimentó una convulsión con pérdida de postura, el experimento terminó y se registró la temperatura corporal interna del ratón. Si no se detectó ninguna convulsión con pérdida de postura durante todo el transcurso del experimento, ese ratón se consideró libre de convulsiones y el ensayo concluyó. Las muestras de tejido se obtuvieron de los ratones a P1 y se realizó genotipificación de los ratones durante el transcurso del experimento usando PCR en tiempo real. La genotipificación se desenmascaró después de completar el ensayo y el estado de los ratones como HET o WT se correlacionó con los datos obtenidos. Los datos se graficaron en una curva de supervivencia Kaplan-Meier y la significación se determinó mediante la prueba de Mantel-Cox. Los resultados se muestran en la **TABLA 36 y TABLA 37** y **Figuras 20A-E**.

Tabla 36. Resumen de condiciones usadas en Ejemplo 11.

SEQ ID NO de eTF	**Dosis (gc/ratón)**	**Elemento regulador**	**Sitio diana reconocido por eTF**	**Estructura DBD+TAD de eTF**	**PoliA**
SEQ ID NO: 305	5.8E+10	SEQ ID NO: 185	SEQ ID NO: 35	ZF DBD + VPR	sPA
SEQ ID NO:	6.0E+10	SEQ ID NO: 185	SEQ ID NO: 35	ZF DBD + VP64	hGH

306					
SEQ ID NO: 307	1.4/1.7E+11	SEQ ID NO: 417	SEQ ID NO: 35	ZF DBD + VP64	sPA
SEQ ID NO: 308	3.1E+11	SEQ ID NO: 185	SEQ ID NO: 35	ZF DBD + VP64	hGH
SEQ ID NO: 309	4.3E+11	SEQ ID NO: 183	SEQ ID NO: 36	ZF DBD + VPR	sPA

Tabla 37. Resumen de resultados del ensayo de convulsiones hipertérmicas.

SEQ ID NO de eTF	No. de Animales de control (tratados con PBS)	No. de Animales tratados	% libre de convulsiones a 42.6 º C	Valor P
Indicador EGFP	16	N/A	44%	
SEQ ID NO: 305	16	14	93	P<0.001
SEQ ID NO: 306	16	18	95	P<0.0001
SEQ ID NO: 307	16	15	87	P<0.01
SEQ ID NO: 308	16	21	76	P<0.05
SEQ ID NO: 309	16	24	62.5	P<0.05

Ejemplo 12

Ensayo de supervivencia en modelo en ratón de síndrome de Dravet

[00362] Para evaluar la eficacia de los activadores

transcripcionales en la línea de ratones Scn1a^{tm1Kea}, se dosificaron camadas de crías producidas a partir de machos Scn1a +/- cruzados con hembras C57Bl/6J reproductoras con vector AAV a través de ICV bilateral a P1. Los ratones se dejaron inalterados con su madre hasta el destete. La observación del estado de salud de ratones Scn1a +/- se realizó diariamente después del destete a P18. Se registró la fecha de los ratones que se encontraron muertos en su jaula hogar de cualquier causa. Los datos se graficaron en una curva de supervivencia Kaplan-Meier y la significación se determinó mediante la prueba de Mantel-Cox.

[00363] Los resultados se muestran en la **TABLA 38** y **Figuras 21A-E**.

Tabla 38: Resumen de condiciones y resultados para ensayo de supervivencia

SEQ ID	Dosis (gc/ratón)	No. de Animales de control (tratados con PBS)	No. de Animales tratados	% de supervivencia a P100 (*a P83)	Valor P
PBS	N/A	53	N/A	49%	
SEQ ID NO: 305	5.8E+10	53	29	76%	P<0.05
SEQ ID NO: 306	6.0E+10	53	34	97%	P<0.0001
SEQ ID NO: 307	1.7E+11	53	37	92%	P<0.0001
SEQ ID NO: 309	4.3E+11	53	12	100%	P<0.001

Ejemplo 13

Niveles de transcripción de SCN1A en primates no humanos después de tratamiento con factor de transcripción específico de SCN1A codificador de AAV

[00364] El estudio usó macacos cynomolgus machos (macaca fascicularis) entre 2 y 3 años de edad. Los animales se preseleccionaron para detectar anticuerpo reactivo cruzado contra AAV9 antes de su inclusión en el estudio mediante un ensayo de anticuerpo neutralizante basado en células. AAV9 que expresa un factor de transcripción específico de SCN1A (SEQ ID NO: 305) o un control se diluyó en PBS y se inyectó de manera intraparenquimatosa a 1.2E12 gc/animal. Se identificaron tres coordenadas estereotóxicas diferentes en cada hemisferio, seis sitios de inyección por animal, para las inyecciones. Se inyectó un volumen de 10 ul por sitio. Las inyecciones en el hemisferio derecho fueron simétricas a aquellas en el izquierdo. Se usaron dos animales no tratados como un control.

[00365] Para valorar la expresión de ARNm de Scn1A, se llevó a cabo transcripción inversa seguida por el método qPCR. En la necropsia, 28 días después de dosificación, se recolectaron secciones de tejido de diferentes regiones del cerebro (corteza frontal, corteza parietal, corteza temporal, corteza occipital, hipocampo, médula, cerebelo; 200 mg cada una) de animales de control y tratados en RNAlater y luego se

congelaron. En resumen, se disecaron 30 mg de tejido, se extrajo ARN (con minikit de tejido lípido Qiagen Rneasy, catálogo # 1023539), se convirtió en ADNc mediante transcripción inversa (usando kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad Applied Biosystems, catálogo # 4368814) y se realizó qPCR usando un conjunto de cebador/sonda para Scn1A y gen de mantenimiento GAPDH (Applied Biosystems, catálogo # Rh02621745-gI FAM).

[00366] Los conjuntos de cebador/sonda para SCN1A se proporcionan a continuación.

Tabla 39: Secuencias de cebador usadas en Ejemplo 13

Gen	SEQ ID NO	Secuencia (5'-3')	Nota
Scn1A	SEQ ID NO: 328	CCATGGAACTGGCTCGATTTCAC	F-cebador
	SEQ ID NO: 439	ATTGGTGGGAGGCCACTGTAT	R-cebador
	SEQ ID NO: 329	AGGCCTGAAAACCATTGTGGGAGCCCT	Sonda (FAM)

[00367] Los conjuntos de cebador/sonda para SCN1A se dan a continuación. La expresión génica de Scn1A en cada muestra de prueba se determinó por cuantificación relativa (RQ) usando el método comparativo Ct (Δ Ct). Este método mide la diferencia de Ct (Δ Ct) entre el gen diana y el gen de limpieza, luego compara los valores ΔCt de las muestras de tratamiento con las muestras de control.

[00368] ΔCt = Ct promedio del gen diana – Ct promedio del gen de limpieza

[00369] ΔΔCt = ΔCt de muestra de tratamiento – ΔCt de muestra de control

[00370] Expresión relativa (muestra de tratamiento) = $2^{-\Delta\Delta Ct}$

[00371] Los datos se reportan como expresión normalizada de ARNm diana en diferentes secciones de tejido del cerebro (ver **Figura 22**). Como se muestra en la **Figura 22**, los sitios en el cerebro proximales a los sitios de inyección intraparenquimatosa mostraron los niveles más altos de expresión de transcripto SCN1A.

Ejemplo 14

Tratamiento de síndrome de Dravet en diferentes líneas de ratones

[00372] El tratamiento del síndrome de Dravet y/o síntomas del mismo usando los casetes de expresión descritos en la presente se puede probar en varias líneas de ratones, tal como líneas de ratones B6(Cg)-*Scn1a*$^{tm1.1Dsf}$/J, Scn1a^{tm1Kea}, y Scn1a-R1470X. Estas líneas de ratones son modelos de ratones establecidos para el síndrome de Dravet. Las líneas de ratones Scn1a^{tm1Kea} y Scn1a-R1470X no requieren recombinasa CRE.

[00373] Se pueden obtener ratones B6(Cg)-*Scn1a*$^{tm1.1Dsf}$/J de la Federación Europea del Síndrome de Dravet a través de los Laboratorios Jackson para estudiar la seguridad y eficacia de

las composiciones activadoras transcripcionales de SCN1A descritas en la presente en el tratamiento del síndrome de Dravet. Estos ratones contienen una mutación asociada al síndrome de Dravet en el exón 24 de SCN1A (A a V en posición 1783). Los ratones también contienen un exón 24 floxed con secuencia tipo silvestre. Cuando no se manipula, esta variedad de ratones expresa dos copias del alelo WT de SCN1A. Sin embargo, tras la administración de un AAV que expresa recombinasa Cre o el cruce de esta cepa con una línea de ratón que expresa Cre, cualquier célula que expresa Cre cambiará a expresar una copia del alelo mutante. Tras la expresión de la subunidad SCN1A mutante, los ratones desarrollan convulsiones espontáneas en 4 semanas. Para los experimentos de ratones B6(Cg)-*Scn1a*$^{tm1.1Dsf}$/J, se pueden utilizar ratones B6(Cg)-*Scn1a*$^{tm1.1Dsf}$/J y ratones C57Bl6 de control.

[00374] El ratón Scn1a^{tm1Kea} (disponible en el Laboratorio Jackson; descrito en Hawkins et al., Scientific Reports, vol. 7: 15327 (2017)) comprende una supresión o eliminación del primer exón codificador de SCN1A. Los ratones homocigotos para el alelo inactivado SCN1A se caracterizan por temblores, ataxia, convulsiones y mueren en el día 16 postnatal. Los ratones heterocigotos en el antecedente C57BL/6 desarrollan convulsiones espontáneas y muere en cuestión de semanas. Esta variedad de ratón se puede usar para estudiar la seguridad y

eficacia del tratamiento de epilepsia y síndrome de Dravet. Ver Miller et al., Genes Brain Behav. 2014 Feb;13(2):163-72 para información adicional.

[00375] El ratón Scn1a-R1470X es un ratón con supresión que lleva un codón de terminación prematuro, R1407X, en el exón 21 del gen SCN1A. La misma mutación se ha identificado como una mutación patógena en tres pacientes SMEI no relacionados. Las crías $Scn1a^{RX/RX}$ se caracterizan por convulsiones espontáneas recurrentes a los 12 días postnatales, que incluyen convulsiones tónico-clónicas y clónicas a los 12–16 días postnatales, y movimientos rítmicos de sacudida y contracción muscular involuntaria. Ver Ogiwara et al., Journal of Neuroscience, May 30 2007, 27 (22) 5903-5914 para información adicional.

[00376] Para probar las composiciones descritas en la presente, incluyendo terapia génica de AAV y tratamiento usando esta terapia génica, que comprende un eTF que favorece la expresión de SCN1A *in vivo*, se inyectan ratones Dravet de cada una de las cepas de ratón descritas anteriormente y ratones de control (por ejemplo, ratón con un SCN1A tipo silvestre o un ratón Dravet no tratado para la cepa) (por ejemplo, administrados por inyección intraperitoneal) con AAV que expresan EGFP u otro gen indicador, o un casete de expresión que comprende un eTF que se une a una secuencia de unión a diana proximal a SCN1A endógeno (por ejemplo,

cualquiera de los casetes de expresión descritos en la presente). Algunos AAV pueden comprender además uno o más elementos reguladores selectivos tipo celular.

[00377] Después de inyecciones de AAV, se monitorea supervivencia de ratón con el paso del tiempo. Todos los ratones se monitorean diariamente para salud general (por ejemplo, peso, hidratación, aseo y movilidad) y se registran las muertes.

[00378] Se puede realizar implantación de telemetría inmediatamente después de inyecciones de AAV (F20-EET, Data Sciences International). Los datos de electrocorticograma se pueden registrar y monitorear continuamente durante al menos 14 días a partir de 10 días después de la cirugía. Todos los eventos convulsivos se pueden registrar durante al menos 14 días después del tratamiento con AAV, anotados con fecha, hora de inicio, hora de finalización, duración y puntuación de severidad. Una reducción en la frecuencia y/o duración de convulsiones después del tratamiento con un AAV que comprende un activador transcripcional SCN1A en comparación con el control de EGFP o un control no tratado es indicativo de la eficacia del activador transcripcional SCN1A al reducir los síntomas y/o severidad del síndrome de Dravet.

[00379] Después del tratamiento de los ratones con AAV, los niveles de expresión de SCN1A se pueden monitorear con el paso del tiempo usando diferentes métodos PCR y/o de

secuenciación para mostrar que el tratamiento con AAV con un activador transcripcional SCN1A puede dar por resultado un incremento en la expresión de SCN1A endógeno. El análisis de transferencia Northern e hibridación *in situ* también se pueden usar para analizar la expresión de SCN1A *in vivo*. El nivel de proteína Nav1.1 también se puede monitorear después del tratamiento para mostrar que un incremento en la expresión de SCN1A se correlaciona con un incremento en la proteína Nav1.1. La proteína Nav1.1 se puede analizar usando varios métodos, incluyendo, pero no limitado a, análisis de transferencia Western, inmunohistoquímica, histoquímica de inmunofluorescencia y/o ensayos ELISA. La formación de canales iónicos de sodio regulados por voltaje funcionales también se puede valorar usando análisis de abrazadera de corriente.

[00380] Las convulsiones inducidas por hipertermia se pueden evaluar para comparar los ratones tipo silvestre y/o ratones Dravet no tratados con ratones Dravet tratados con terapia génica de AAV que comprende un casete de expresión descrito en la presente. En estos experimentos, la temperatura corporal central se monitorea con una sonda de temperatura rectal RET-3 (Physitemp Instruments, Inc., New Jersey, EUA) y se controla mediante una lámpara de calor conectada a un regulador de temperatura de roedor (TCAT-2DF, Physitemp)

reconfigurado con un controlador Partlow 1160+ (West Control Solutions, Brighton, Reino Unido). La temperatura corporal se eleva 0.5 °C cada dos minutos hasta el inicio de la primera convulsión clónica. Se espera que los ratones Dravet tratados con un AAV que comprende un activador transcripcional SCN1A tengan una temperatura umbral más alta antes del inicio de la primera convulsión clonal en comparación con los ratones Dravet no tratados.

[00381] Diferentes dosis de AAV que comprenden un casete de expresión también se pueden administrar a ratones para determinar el perfil de seguridad y eficacia de cada tratamiento de terapia génica. Estos estudios preclínicos también pueden informar las dosis óptimas de la terapia génica para uso para el tratamiento de síndrome de Dravet.

Ejemplo 15

Tratamiento de enfermedad de Alzheimer en ratones

[00382] Ratones hembra APP/PS1 y tipo silvestre (WT), que se crían en PsychoGenics y se establecen como modelo de ratón de la enfermedad de Alzheimer, se pueden usar para estudiar la seguridad y eficacia de las composiciones activadoras transcripcionales SCN1A descritas en la presente en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Los ratones APP/PS1 contienen transgenes humanos tanto para la proteína precursora beta amiloide (APP) que porta la mutación sueca

(670 G-T y 671 A-C) y Presenilina 1 (PSEN1) que contiene una mutación L166P, ambos bajo el control del promotor Thy1. Estos ratones desarrollan síntomas de enfermedad de Alzheimer, incluyendo placas amiloides y defectos de memoria. Se puede encontrar descripción adicional de estos ratones en Radde et al, 2006 (Radde, Rebecca, et al. Aβ42-driven cerebral amyloidosis in transgenic mice reveals early and robust pathology.”. EMBO reports 7.9 (2006): 940-946).

[00383] Se inyectan ratones APP/PS1 y controles no transgénicos con ya sea un vector AAV de control que expresa EGFP o un vector AAV de tratamiento que comprende un activador transcripcional SCN1A (por ejemplo, cualquiera de los casetes de expresión descritos en la presente). Algunos AAV pueden comprender además un elemento regulador selectivo GABAérgico y/o selectivo de PV.

[00384] Después de inyecciones de AAV, se monitorea supervivencia de ratón con el paso del tiempo. Todos los ratones se monitorean diariamente para salud general (por ejemplo, peso, hidratación, aseo y movilidad) y se registran las muertes. Después de las inyecciones de los AAV, los ratones también se implantan con un transmisor EET. La actividad cerebral se puede registrar y monitorear durante 24 horas durante al menos 4 semanas después de la cirugía. Los datos de electrocorticograma se pueden analizar automáticamente y los niveles de potencia en las diferentes

bandas de frecuencia (50-100 Hz) se pueden comparar a través de diferentes grupos: Ratones WT, ratones APP/PS1 no tratados y ratones APP/PS1 tratados con AAV, cada uno se trató con una terapia génica de AAV como se describió anteriormente. La actividad de alta potencia gamma incrementada se asocia con convulsiones en pacientes con Alzheimer y pacientes con epilepsia. Por lo tanto, se espera que los ratones APP/PS1 no tratados muestren un nivel más alto de actividad de alta potencia gamma que los ratones de control, en tanto que se espera que este aumento esté ausente o reducido en los ratones tratados, lo que indica un tratamiento eficaz con una terapia génica de AAV que comprende un activador transcripcional de SCN1A.

[00385] Después del tratamiento de los ratones con AAV, los niveles de expresión de SCN1A se pueden monitorear con el paso del tiempo usando diferentes métodos PCR y/o de secuenciación para mostrar que el tratamiento con AAV con un activador transcripcional SCN1A puede dar por resultado un incremento en la expresión de SCN1A endógeno. El análisis de transferencia Northern e hibridación *in situ* también se pueden usar para analizar la expresión de SCN1A *in vivo*. El nivel de proteína Nav1.1 también se puede monitorear después del tratamiento para mostrar que un incremento en la expresión de SCN1A se correlaciona con un incremento en la proteína Nav1.1. La proteína Nav1.1 se puede analizar usando

varios métodos, incluyendo, pero no limitado a, análisis de transferencia Western, inmunohistoquímica, histoquímica de inmunofluorescencia y/o ensayos ELISA. La formación de canales iónicos de sodio regulados por voltaje funcionales también se puede valorar usando análisis de abrazadera de corriente.

[00386] Diferentes dosis de AAV que comprenden un casete de expresión también se pueden administrar a ratones para determinar el perfil de seguridad y eficacia de cada tratamiento de terapia génica. Estos estudios preclínicos también pueden informar las dosis óptimas de la terapia génica para uso para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer.

Ejemplo 16

Identificación de regiones diana capaces de favorecer la expresión de GRN usando activador transcripcional específico de GRN

[00387] A fin de identificar regiones del genoma capaces de favorecer la expresión de GRN endógena, se diseñaron diferentes factores de transcripción (ya sea nucleasas de dedos de zinc o construcciones de ARNg/daCas9) de modo que tomaran como diana diferentes regiones del genoma como se expone en la **TABLA 40** a continuación. Para construcciones de ARNg/daCas9, el ARNg tuvo la misma secuencia que la región diana debido a que el ARNg se diseñó para tomar como diana la

hebra genómica complementaria. Las células HEK293 se cultivaron por métodos estándar y se transfectaron (FugeneHD, Promega) con plásmido de 3 ug que porta un factor de transcripción modificado o construcción de control por concavidad de una placa de 6 concavidades. Las células se transfectaron con plásmidos que expresan las construcciones mostradas a continuación en la **TABLA 40 y TABLA 41**. 48 horas después de la transfección, se recolectaron células y se aisló el ARN (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3ug) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 66 °C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra SCN1A (5’-TGTCTCGGCATTGAGAACATTC-3’ (SEQ ID NO: 190; 5’-ATTGGTGGGAGGCCATTGTAT-3’ (SEQ ID NO: 191)) para cuantificar los niveles de transcripto SCN1A endógeno, y niveles relativos de expresión de SCN1A se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5’-ACCACAGTCCATGCCATCAC’3’ (SEQ ID NO: 192); 5’-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3’ (SEQ ID NO: 193)). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control.

[00388] Los resultados se muestran en **Figura 23** y en la **TABLA 40** a continuación como veces de cambio de transcripción de

GRN con respecto a condiciones de control (por ejemplo, control de EGFP-KASH).

Tabla 40: Regiones diana de GRN y efecto en favorecimiento de la expresión de GRN endógena usando los factores de transcripción especificados.

eTF SEQ ID NO:	**secuencia de eTF**	**Sitio diana SEQ ID NO:**
SEQ ID NO: 337	(ver antes)	SEQ ID NO: 330
A	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 331
C	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 332
M	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO:113
D	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 333
E	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 333
F	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 38
J	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 38
G	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 38
B	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 331
SEQ ID NO: 338	(ver antes)	SEQ ID NO: 331
H	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 334
I	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 335
SEQ ID NO: 339	(ver antes)	SEQ ID NO: 336
SEQ ID NO: 340	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 341	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
K	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 38
L	(Ver TABLA 23)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 342	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 343	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 344	(ver antes)	SEQ ID NO: 335
SEQ ID NO: 10	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 16	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 46	(ver antes)	SEQ ID NO: 38

eTF SEQ ID NO:	secuencia de eTF	Sitio diana SEQ ID NO:
SEQ ID NO: 345	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 60	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 346	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 63	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 64	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 347	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 348	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 349	(ver antes)	SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 350	(ver antes)	SEQ ID NO: 38

Tabla 41: DBD de GRN

eTF SEQ ID NO:	DBD SEQ ID NO:
SEQ ID NO: 337	SEQ ID NO: 377
SEQ ID NO: 338	SEQ ID NO: 378
SEQ ID NO: 339	SEQ ID NO: 379
SEQ ID NO: 340	SEQ ID NO: 380
SEQ ID NO: 341	SEQ ID NO: 381
SEQ ID NO: 342	SEQ ID NO: 382
SEQ ID NO: 343	SEQ ID NO: 383
SEQ ID NO: 344	SEQ ID NO: 384
SEQ ID NO: 345	SEQ ID NO: 385
SEQ ID NO: 346	SEQ ID NO: 386
SEQ ID NO: 347	SEQ ID NO: 387
SEQ ID NO: 348	SEQ ID NO: 388
SEQ ID NO: 349	SEQ ID NO: 389
SEQ ID NO: 350	SEQ ID NO: 390

Ejemplo 17

Expresión relativa de GRN de un casete de expresión

[00389] Este ejemplo describe la expresión relativa de GRN de un casete de expresión que comprende un activador transcripcional que no se presenta de manera natural que incrementó la expresión del gen GRN (como se mide por ARN de GRN) en células HEK293. Se construyeron casetes de expresión A, B, C, D, E, F, J, K, L, G, H, I y M, cada uno que comprende un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural que comprende un dominio de unión a ADN, seleccionado de SEQ ID NO: 165-170 y SEQ ID NO: 112, enlazada a un dominio de activación transcripcional de VPR o VP64 (por ejemplo, SEQ ID NO: 95 o SEQ ID NO: 114, como se describe en la **TABLA 23** anterior. Cada casete de expresión también comprendió un elemento regulador que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 178 o 179. El casete de expresión J es similar al casete de expresión K excepto que J comprendió adicionalmente un indicador de eGFP.

[00390] Para probar los activadores transcripcionales de GRN, las células HEK293 se cultivaron por métodos estándar y se transfectaron (PEI) con 3 µg de plásmido por concavidad de una placa de 6 concavidades. 48 horas después de la transfección, se recolectaron células y se aisló el ARN (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3 µg) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England

Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 66 °C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra GRN (5’- ATGGTCAGTTCTGCCCTGTG-3’ (SEQ ID NO: 287); 5’-CGGTAAAGATGCAGGAGTGGC-3’(SEQ ID NO: 288)) para cuantificar los niveles de transcripto GRN endógeno y niveles relativos de expresión de GRN se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5’-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3’ (SEQ ID NO: 192); 5’-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3’ (SEQ ID NO: 193)).

[00391] El control se refiere a un casete de expresión que comprende SEQ ID NO: XX y que carece de un activador transcripcional. La **Figura 24A** ilustra la expresión relativa de GRN en células HEK293 transfectadas con cada casete de expresión, presentada como veces de cambio con respecto a la condición de control. Este experimento mostró activadores transcripcionales como se describe en la presente que dieron por resultado favorecimiento de la expresión de ARN transcrito del gen GRN endógeno. Todos los casetes de expresión de activador transcripcional probado dieron por resultado un incremento en la expresión de GRN en células HEK293.

[00392] También se realizaron experimentos ELISA para evaluar la capacidad de los casetes de expresión que comprenden diferentes activadores transcripcionales de GRN para incrementar la proteína de progranulina secretada (hPGRN) en

una célula. Se transfectaron células 293T con ciertos casetes de expresión descritos en la **TABLA 23** y se recolectaron medios de cultivo 48 horas después de la transfección. Después de un breve centrifugado para eliminar desechos celulares, el medio de cultivo se sometió a análisis ELISA usando un kit ELISA de progranulina humana de R&D Systems de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las concentraciones de progranulina se calcularon con base en el análisis de curva estándar descrito en el manual de kit. **La Figura 24B** ilustra el promedio de tres resultados de ELISA independientes obtenidos para cada casete de expresión probado en términos de progranulina humana (hPGRN) en sobrenadante (ng/mL). Todos los casetes de expresión de activador transcripcional probados dieron por resultado un incremento en hPRGN secretada en células con respecto al casete de expresión de control.

Ejemplo 18

Incremento de expresión génica en células HEK293T

[00393] Se transfectaron células HEK293T con ADN de plásmido que contiene un gen de luciferasa bajo el control de uno de varios elementos reguladores diferentes, es decir, control sin promotor; SCP, CMV, SEQ ID NO: 178 enlazada de manera operativa a minCMV y CAG. Los valores normalizados de luciferasa de cada construcción se ilustran en la **Figura 25**. Elemento regulador SEQ ID NO: XX enlazado de manera operativa

a un promotor minCMV activó niveles más altos de expresión de luciferasa que minCMV solo y SCP solo.

[00394] Este experimento indicó que SEQ ID NO: 178 es un RE que activa la alta expresión génica en una célula. Este RE se puede adicionar a un casete de expresión descrito en la presente que comprende un activador transcripcional que no se presenta de manera natural de GRN para incrementar la expresión del activador transcripcional en una célula, que da por resultado una expresión incrementada del gen GRN endógeno. En algunos casos, uno o más RE que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 178 se enlaza de manera operativa a un activador transcripcional para incrementar la expresión de GRN en una célula. Este elemento regulador se pueden adicionar a un casete de expresión en la dirección 5’ y/o en la dirección 3’ de un activador transcripcional en un casete de expresión.

Ejemplo 19

Favorecimiento de la expresión de niveles de proteína y transcripción de progranulina en células HEK293 usando factores de transcripción específicos de progranulina

[00395] Las células HEK293 se cultivaron por métodos estándar y se transfectaron (FugeneHD, Promega) con 3 ug de plásmido por concavidad de una placa de 6 concavidades. Las células se transfectaron con plásmidos que contienen las construcciones mostradas a continuación en la **TABLA 42**. 48

horas después de la transfección, se aisló ARN de células para análisis qPCR y se recolectó medio de las concavidades infectados para cuantificar los niveles de PGRN secretada por análisis ELISA.

Para análisis qPCR, se recolectaron células y se aisló el ARN (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3ug) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 66 °C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra PGRN (5’- ATGGTCAGTTCTGCCCTGTG-3’ (SEQ ID NO: 287); 5’-CGGTAAAGATGCAGGAGTGGC-3’ (SEQ ID NO: 288)) para cuantificar los niveles de transcripto PGRN endógeno, y niveles relativos de expresión de PGRN se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5’-ACCACAGTCCATGCCATCAC’3’ (SQE ID NO: 192); 5’-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3’ (SEQ ID NO: 193). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control (ver **Figura 26**). La administración de factores de transcripción modificados indujo grados variables de favorecimiento de la expresión de transcripto GRN endógeno con respecto a la condición de control de EGFP.

Para análisis ELISA, se recolectaron medios de cultivo celular en el día especificado después de la infección por

virus y se sometieron a análisis ELISA usando kit ELISA de PGRN humana (R&D systems, DPGRN0). El procedimiento ELISA se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control (ver **Figura 27**). Estos datos confirman que el favorecimiento de la expresión de GRN por factores de transcripción modificados dio por resultado secreción incrementada de proteína PGRN.

Tabla 42. Construcciones de GRN usadas en Ejemplo 19.

SEQ ID NO de eTF
SEQ ID NO: 10
SEQ ID NO: 16
SEQ ID NO: 59
SEQ ID NO: 341
SEQ ID NO: 63
SEQ ID NO: 60
SEQ ID NO: 64
SEQ ID NO: 335
SEQ ID NO: 336

Ejemplo 20

Favorecimiento de la expresión de niveles de proteína y transcripto de progranulina en neuronas GABA usando un factor de transcripción específico de progranulina

[00396] las neuronas GABA iCell (Cellular Dynamics) se colocaron en placa en una placa de 6 concavidades (~1E6 células/concavidad) y se mantuvieron por protocolo recomendado por el fabricante. 72h después de la colocación en placa, AAV recombinante (serotipo AAV-DJ) que expresa EGFP

o activador (SEQ ID NO: 342) bajo el control de un promotor CBA se adicionó al medio de cultivo en aproximadamente copias de genoma 2E11 por concavidad. Una semana después de la infección, se aisló ARN de células para análisis qPCR y se recolectó medio de las concavidades infectadas para cuantificar los niveles de PGRN secretada por análisis ELISA.

[00397] Para el análisis qPCR, se aisló ARN de células cultivadas (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN recuperado se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 66 °C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra PGRN (5’- ATGGTCAGTTCTGCCCTGTG-3’ (SEQ ID NO: 287); 5’-CGGTAAAGATGCAGGAGTGGC-3’ (SEQ ID NO: 288)) para cuantificar los niveles de transcripto PGRN endógeno, y niveles relativos de expresión de PGRN se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5’-ACCACAGTCCATGCCATCAC’3’ (SEQ ID NO: 192); 5’-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3’ (SEQ ID NO: 193)). Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control (ver **Figura 28**). La administración de SEQ ID NO: 342 produjo un favorecimiento robusto de la expresión de transcripto GRN endógeno con respecto a la condición de control de EGFP.

[00398] Para análisis ELISA, se recolectaron medios de cultivo celular en el día especificado después de la infección por virus con ya sea copias de genoma 0.5E11 por concavidad (condición de dosis baja) o copias de genoma 2E11 por concavidad (condición de dosis alta) y se sometieron a análisis ELISA usando kit ELISA de PGRN humana (R&D systems, DPGRN0). El procedimiento ELISA se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los datos se presentan como (ver **Figura 29**). Estos datos confirman que el favorecimiento de la expresión de GRN por SEQ ID NO: 342 dio por resultado secreción incrementada de proteína PGRN en neuronas cultivadas.

Ejemplo 21

Incremento de proteína GRN plasmática *in vivo*

[00399] Para probar la expresión de activadores transcripcionales de GRN *in vivo*, se inyectó AAV9 que comprende un casete de expresión J o G, como se describe en la **TABLA 23** anterior en ratones. El virus AAV9 purificado se generó en VectorBioLabs y se reconstituyó en volumen total de 200 ul (con PBS) antes de inyección. Se usaron animales machos C57BL6 de 6~9 semanas de edad para inyección en la vena de la cola, después del período de aclamación. La recolección de sangre en vida se realizó mediante sangrado de la vena de la cola y se generaron muestras de plasma usando el método K2EDTA. Se realizó análisis ELISA con kit ELISA de

PGRN de ratón (Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con el manual del fabricante. **La Figura 30** ilustra los resultados de ELISA en términos de GRN plasmática en µg/mL para ratones tratados con diferentes construcciones de AAV9 o control una semana después de la inyección. En comparación con un control de amortiguador de PBS, todos los ratones tratados con AAV9 que comprenden un activador transcripcional de GRN mostraron un incremento pronunciado en el nivel de proteína GRN plasmática. Se probaron diferentes dosis de AAV9-J y AAV9-G: Copias genómicas 1E11 (GC) y 5E11 GC por ratón. Para AAV9-G, el incremento de las copias genómicas inyectadas por ratón dio por resultado al menos un incremento de dos veces en la proteína GRN plasmática en comparación con la dosis inferior a 1E11 GC/ratón.

Ejemplo 22

Activación de Alta Expresión de GRN en Células Gliales

[00400] La selectividad por células gliales, o células microgliales en particular, se puede determinar usando imagenología fluorescente. Los vectores de AAV que contienen el gen indicador eGFP se unen o enlazan de manera operativa a un promotor de control (EF1α) o un RE selectivo a glia o microglia. Estos vectores de AAV se coinyectan con un vector tdTomato dependiente de CRE en un ratón CRE, en donde Cre se expresa en la glia o microglia en particular.

[1] Se les puso una infusión a los ratones de manera

bilateral con 1.5 µL de vector AAV (5^{12} a 1^{13} gc/ml) en la corteza frontal o el cuerpo estriado a una velocidad de 0.3 µL/min con un período de descanso de 4 min después de inyección. Después del tratamiento, la salud y peso corporal de los ratones se monitorean cada día. Para recolección de tejido, se aplica eutanasia a los ratones mediante sobredosis de isoflurano y se perfunden con paraformaldehído al 4% (PFA). Para analizar la expresión selectiva del gen indicador en células gliales o microglia, se obtiene un pedazo de tejido cerebral de la corteza frontal o cuerpo estriado, se secciona y se tiñe para eGFP y tdTomato usando procedimientos inmunohistoquímicos estándares con anticuerpo policlonal de conejo anti-RFP (Rockland Antibodies and Assay) y anticuerpo policlonal de pollo anti-eGFP (Aves Labs). Usando microscopía de fluorescencia, la fuerte superposición entre la fluorescencia del gen indicador de eGFP y la fluorescencia de tdTomate en comparación con el control indica la expresión selectiva en células gliales o microglia.

[2] Este método se puede utilizar para identificar elementos reguladores que se dirigen o toman como diana a la expresión génica alta en la corteza frontal u otras células del CNS, tal como células Purkinje, células piramidales (por ejemplo, células Betz), neuronas motoras y neuronas corticales cerebrales, afectadas por deficiencia de GRN.

[3] Una vez que se han identificado elementos

reguladores que son selectivos para células gliales, microglia o cualquier otro tipo de célula en el CNS que se ve afectada negativamente por la deficiencia de GRN, estos elementos reguladores se pueden enlazar o unir de manera operativa a un activador transcripcional que se dirige o toma como diana al gen de GRN en un casete de expresión descrito en la presente para aumentar selectivamente la expresión de GRN en la célula diana o tipo de tejido *in vivo*. Por ejemplo, los RE selectivos para células gliales o células microgliales se pueden unir de manera operativa a cualquiera de los activadores transcripcionales de los casetes de expresión descritos en la presente para aumentar selectivamente GRN *in vivo*.

Ejemplo 23

Incremento de proteína GRN plasmática *in vivo*

[00401] Para probar la expresión de activadores transcripcionales de GRN *in vivo*, AAV9 que comprende cualquiera de los casetes de expresión descritos en la presente. El virus AAV9 purificado se puede generar en VectorBioLabs y reconstituir en volumen total de 200 ul (con PBS) antes de inyección. Se pueden usar animales machos C57BL6 de 6~9 semanas de edad para inyección en la vena de la cola, después del período de aclamación. La recolección de sangre en vida se puede realizar mediante sangrado de la vena de la cola y se pueden generar muestras de plasma usando el

método K2EDTA. Se puede realizar análisis ELISA con el kit ELISA de GRN de ratón (Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con el manual del fabricante. En comparación con un control de amortiguador de PBS, se espera que todos los ratones tratados con AAV9 que comprenden un activador transcripcional de GRN muestren un incremento pronunciado en el nivel de proteína GRN plasmática. Se pueden probar diferentes dosis de AAV9-eTF, tal como copias genómicas 1E11 (GC) y 5E11 GC por ratón.

Ejemplo 24

Tratamiento de síntomas de FTD en ratones

[00402] Los ratones suprimidos o inactivados de GRN heterocigotos, que presentan síntomas de FTD, es decir, haploinsuficiencia de GRN, proporcionan un modelo animal *in vivo* para validar las composiciones y métodos descritos en la presente. Los casetes de expresión de AAV descritos en la presente se inyectan en los ratones para rescatar la haploinsuficiencia de GRN al incrementar los niveles de expresión de GRN *in vivo*. Una vez que se administran casetes de expresión en los ratones mediante inyección/infusión, el rescate de la haploinsuficiencia de GRN se puede monitorear con el tiempo usando diversos métodos, tal como medir los niveles de GRN secretado o segregado en muestras de sangre, medir la transcripción de GRN usando métodos PCR y/o medir los cambios de comportamiento (por ejemplo, coordinación

motora, aprendizaje, socialización con otros ratones y otras funciones cognitivas) en los ratones tratados en comparación con un grupo de control y/o no tratado.

[00403] Se pueden usar métodos similares en modelos en ratones de enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y aterosclerosis (por ejemplo, medir una reducción en el engrosamiento de pared arterial en ratones después de tratamiento usando los casetes de expresión descritos en la presente).

Ejemplo 25

Examen de sistema indicador

[00404] Las células HEK293 se cultivaron por métodos estándar y se cotransfectaron (FuGene HD, Promega) con 1.5 ug de un plásmido indicador que consiste en EGFP bajo el control de un promotor hermético de elemento sensible a tetraciclina (TRE) y 1.5 ug de cada activador probado o control de vector vacío (pUC57). 48 horas después de la transfección, se formaron en imágenes células usando un microscopio epifluorescente para expresión de GFP. Se recolectaron las células y se aisló el ARN (Qiagen RNeasy Mini kit) y se trató con DNasa. El ARN (3ug) se transcribió de manera inversa usando cebadores OligoDT (Superscript IV, Invitrogen). Las muestras de ADNc se analizaron por qPCR usando Phusion Polymerase (New England Biolabs) y SYBR Green I: (30s a 98°C, 40x[10 seg a 98°C, 15 seg a 65°C, 15 seg a 72°C]). Se usaron cebadores contra EGFP

(5’- GCTACCCCGACCACATGAAG-3’ (SEQ ID NO: 369); 5’-TCTTGTAGTTGCCGTCGTCC-3’ (SEQ ID NO: 370)) para cuantificar los niveles de transcripto EGFP activado por indicador, y niveles relativos de expresión de EGFP se determinaron por el método delta-delta Ct con GAPDH como un gen de referencia (5’-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3’ (SEQ ID NO: 192); 5’-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3’ (SEQ ID NO: 193)).

[00405] Los datos se presentan como veces de cambio con respecto a la condición de control. Ver **Figura 31A** y **Figura 31B** ilustran los eTF de SEQ ID NO: 2-4 dio por resultado expresión incrementada de EGFP en comparación con el control de vector vacío. eTF de SEQ ID NO: 51 que comprende un TAD de VP64 viral dio por resultado el nivel más alto de expresión relativa de EGFP. Como se muestra en la **Figura 32**, eTF que comprende SEQ ID NO: 12 dio por resultado expresión relativa de EGFP de al menos 5 veces en comparación con SEQ ID NO de control: 187. La **Figura 33** ilustra los eTF de SEQ ID NO: 51-53 dieron por resultado expresión relativa de EGFP de más de 10 veces en comparación con la proteína de control sola o indicador solo (SEQ ID NO: 50) sin un TAD.

[00406] Diferentes modalidades de esta descripción se definen con referencia a las siguientes cláusulas enumeradas:

1. Un casete de ácido nucleico que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que comprende tres o más dominios de unión a ADN, en donde la

proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural incrementa o reprime la expresión de un gen endógeno por un factor de al menos 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 25, 50 o 100 veces, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas), o al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3).

2. Un casete de ácido nucleico que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que comprende una pluralidad de dominios de unión que se unen colectivamente a al menos 21 bases en un genoma humano y tienen al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas), o al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de

identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3).

3. El casete de ácido nucleico de la cláusula 1 o 2, en donde la proteína de unión a ADN se une a un sitio diana al que la contraparte humana no se une.

4. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-3, en donde la contraparte humana es EGR1 o EGR3.

5. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-4, en donde los dominios de unión son dedos de zinc.

6. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-5, en donde los dominios de unión comprenden una duplicación o triplicación de un dominio de unión de la contraparte humana.

7. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-5, en donde los dominios de unión comprenden 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 copias de un dominio de unión a ADN o un dedo de zinc de la contraparte humana.

8. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-7, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta natural comprende al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 dedos de zinc.

9. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-8 en donde el gen endógeno es SCN1A o GRN.

10. El casete de ácido nucleico cualquiera de las

cláusulas 1-9, en donde la proteína de unión a ADN reconoce un sitio de unión en una ubicación genómica de modo que la unión en el sitio permite que la proteína de unión a ADN module la expresión del gen endógeno.

11. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-10, en donde la proteína de unión a ADN reconoce un sitio de unión ubicado cerca o en un locus génico GRN o SCN1A endógeno.

12. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-11, en donde la proteína de unión a ADN reconoce un sitio de unión que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336; (ii) una variante de las mismas; (iii) una secuencia que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de (i) o (ii); o (iv) una región genómica dentro de 5pb, 10pb, 50pb, 100pb, 200pb, o 500pb de las mismas.

13. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-11, en donde la proteína de unión a ADN reconoce un sitio de unión que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 36 o 38; (ii) una variante de las mismas; (iii) una secuencia que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de (i) o (ii); o (iv) una región genómica dentro de 5pb, 10pb, 50pb, 100pb, 200pb, o 500pb de las mismas.

14. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-12, en donde la proteína de unión a ADN tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de (i) o (ii).

15. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-11 y 13, en donde la proteína de unión a ADN tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 6-10, 13-16, 57-61, 63, 64, 67-73, 74-77, 268-282, 295-299, 337-350, o 365-366; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de (i) o (ii).

16. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-15, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio efector de transcripción derivado de EGR1 o EGR3.

17. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 1-15, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio efector de transcripción derivado de CITED2 o CITED4.

18. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 16-17, en donde el dominio efector se coloca en el

extremo C-terminal de los dominios de unión a ADN en la proteína de unión a ADN.

19. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 16-17, en donde el dominio efector se coloca en el extremo N-terminal de los dominios de unión a ADN en la proteína de unión a ADN.

20. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 1-19, en donde los dominios de unión a ADN comprenden colectivamente una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de (i) o (ii).

21. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 1-20, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio efector que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 95-100 o 114, (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia a cualquiera de (i) o (ii).

22. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 1-21, en donde los dominios de unión a ADN comprenden al menos una sustitución de aminoácido en la posición -1, 2, 3 o 6 de hélices de reconocimiento de dedos

de zinc en los dominios.

23. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 1-22, en donde la proteína de unión a ADN reconoce un sitio de unión a diana de 18nt o más largo, 21nt o más largo, o 24nt o más largo.

24. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 1-23, en donde la identidad de secuencia se mide usando BLASTO o ClustalW

25. El casete de ácido nucleico de una de las cláusulas 1-24, en donde la proteína de unión a ADN está en un vector viral.

26. El casete de ácido nucleico de la cláusula 25, en donde el vector viral es AAV.

27. El casete de ácido nucleico de la cláusula 26, en donde el AAV es AAV9.

28. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 1-27, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural tiene inmunogenicidad comparable como su contraparte humana, como se mide por ensayo elispot (por ejemplo, en donde comparable se refiere a un nivel de inmunogenicidad dentro de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10% de la respuesta inmunitaria generada por la proteína humana que se presenta de manera natural).

29. Un vector AAV que comprende un casete de ácido nucleico que codifica para una proteína de unión a ADN que no

se presenta de manera natural que tiene >90% de identidad de secuencia a una proteína humana, o al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas), o al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3), y que comprende un dominio de unión a ADN que comprende una pluralidad de motivos de unión que se unen colectivamente a > 9, >10, >11, >12, >13, >14, >15, >16, >17, >18, >19, >20, >21, >22, >23, >24, >25, >26, >27, >28, >29 o >30 bases.

30. El vector AAV de la cláusula 29, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural se une a un sitio diana en el genoma humano al que la proteína humana no se une.

31. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-30, en donde la proteína humana es EGR1 o EGR3.

32. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-31, en donde el dominio de unión a ADN comprende al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 dedos de zinc.

33. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-

32, en donde el dominio de unión a ADN comprende una duplicación, triplicación o cuadruplicación de un dominio de unión a ADN en la proteína humana.

34. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-33, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural reconoce un sitio de unión a diana cerca o en un locus genómico de SCN1A o GRN (por ejemplo, loci genómicos como se describe en la TABLA 1, o en la dirección 5’ de un codón de inicio de GRN o SCN1A endógeno.

35. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-34, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural modula la expresión (por ejemplo, incrementa la expresión) de GRN o SCN1A endógeno.

36. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-35, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural reconoce un sitio de unión que comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336; (ii) una variante de las mismas; (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii); o (iv) una región genómica dentro de 5pb, 10pb, 50pb, 100pb, 200pb, o 500pb de las mismas.

37. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-36, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de

manera natural comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 44-45, 48-49, 54-55, 58-62, 67-77, 103, 112, 114, 268-282, 305-325, 337-350, 364, 295-299, 365-366; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

38. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

39. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-38, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende un dominio de efector de transcripción de EGR1 o EGR3.

40. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-39, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende un dominio de efector de transcripción de CITED2 o CITED4.

41. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 39-

40, en donde el dominio efector se coloca en el extremo C-terminal del dominio de unión a ADN en la proteína de unión a ADN.

42. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 39-41, en donde el dominio efector se coloca en el extremo N-terminal del dominio de unión a ADN en la proteína de unión a ADN.

43. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-42, en donde el dominio de unión a ADN comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

44. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-43, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio efector que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 95-100 o 114 (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

45. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-44, en donde el dominio de unión a ADN comprende al menos una sustitución de aminoácido en la posición -1, 2, 3 o 6 de

hélices de reconocimiento de dedos de zinc en el dominio.

46. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-45, en donde la proteína de unión a ADN reconoce un sitio de unión a diana de 18nt o más largo, 21nt o más largo, o 24nt o más largo.

47. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-46, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural tiene inmunogenicidad comparable como la proteína humana, como se mide por ensayo elispot (por ejemplo, en donde comparable se refiere a un nivel de inmunogenicidad dentro de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10% de la respuesta inmunitaria generada por la proteína humana que se presenta de manera natural).

48. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-47, en donde la identidad de secuencia se mide usando BLAST o ClustalW.

49. El vector AAV de cualquiera de las cláusulas 29-48, en donde el AAV es AAV9.

50. Un vector que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que tiene 90% o más de identidad de secuencia a una proteína humana, o al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro

de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas), o al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3), en donde la proteína de unión a ADN es capaz de modular la expresión de un gen humano endógeno.

51. El vector de la cláusula 50, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende un dominio de unión a ADN que reconoce un sitio de unión a diana que tiene al menos 9 pb de longitud.

52. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-51, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende un dominio de unión a ADN que reconoce un sitio de unión a diana que tiene al menos 12 pb, 15 pb, 18 pb, 21 pb o 24 pb de longitud.

53. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-52, en donde la proteína de unión a ADN se une a un sitio diana en el genoma humano no reconocido por EGR1 o EGR3 humana.

54. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-53, en donde el gen humano endógeno es SCN1A o GRN.

55. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-54, en donde la proteína de unión a ADN reconoce un sitio de unión a diana cerca o en un locus genómico de SCN1A o GRN (por ejemplo, locus genómico como se describe en la TABLA 1),

o en la dirección 5’ de un codón de inicio de GRN o SCN1A endógeno.

56. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-55, en donde la proteína de unión a ADN comprende al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 dedos de zinc.

57. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-56, en donde la proteína de unión a ADN comprende una duplicación, triplicación o cuadruplicación de un dominio de unión a ADN o uno o más dedos de zinc de EGR1 o EGR3.

58. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-57, en donde la proteína de unión a ADN reconoce un sitio de unión que comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336; (ii) una variante de las mismas; (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii); o (iv) una región genómica dentro de 5pb, 10pb, 50pb, 100pb, 200pb, o 500pb de las mismas.

59. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-58, en donde la proteína de unión a ADN comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

60. El vector de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde la proteína de unión a ADN comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 44-45, 48-49, 54-55, 58-62, 67-77, 103, 112, 114, 268-282, 305-325, 337-350, 364, 295-299, o 365-366; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

61. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-60, en donde la identidad de secuencia se refiere a la identidad de secuencia local de un dominio de unión a ADN en la proteína de unión a ADN y de EGR1 o EGR3.

62. El vector de la cláusula 61, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio efector de transcripción derivado de CITED2 o CITED4.

63. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-62, en donde la identidad de secuencia se refiere a la identidad de secuencia global de la proteína de unión a ADN en comparación con EGR1 o EGR3 humana.

64. El vector de la cláusula 63, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio efector de transcripción derivado de EGR1 o EGR3.

65. El vector de la cláusula 62 o 64, en donde el dominio efector se coloca en el extremo C-terminal del dominio de unión a ADN en la proteína de unión a ADN.

66. El vector de la cláusula 62 o 64, en donde el dominio efector se coloca en el extremo N-terminal del dominio de unión a ADN en la proteína de unión a ADN.

67. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-66, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio de unión a ADN que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

68. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-67, en donde el dominio efector tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 95-100 o 114 (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

69. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-68, en donde los dedos de zinc comprenden al menos una sustitución de aminoácido en la posición -1, 2, 3 o 6 de hélices de reconocimiento de los dedos de zinc.

70. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-69, en donde la proteína de unión a ADN tiene inmunogenicidad comparable como EGR1 o ERG3 humana, como se mide por el ensayo elispot (por ejemplo, en donde comparable se refiere a un nivel dentro de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10% de la respuesta inmunitaria generada por la proteína humana que se presenta de manera natural).

71. El vector de cualquiera de las cláusulas 50-70, en donde la identidad de secuencia se mide usando BLAST o ClustalW.

72. El vector de cualquiera de las cláusulas 70-72, en donde el vector es un vector viral.

73. El vector de la cláusula 72, en donde el vector viral es AAV.

74. El vector de la cláusula 73, en donde el AAV es AAV9.

75. Un casete de ácido nucleico que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que tiene 90% o más de identidad de secuencia a una proteína humana que se presenta de manera natural, o al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción

entre las dos proteínas), o al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3), en donde la proteína de unión a ADN es capaz de modular la expresión de SCN1A.

76. El casete de ácido nucleico de la cláusula 75, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural se une selectivamente a una región que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336, o una región dentro de 5pb, 10pb, 50pb, 100pb, 200pb, o 500pb de las mismas.

77. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 75-76, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural es capaz de incrementar la expresión de SCN1A por un factor de al menos 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 50 o 100 veces en comparación con un control.

78. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 75-77, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende un dominio de unión a ADN que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%,

o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

79. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 75-78, en donde el casete es un vector viral.

80. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 75-79, en donde el casete es un vector AAV, tal como AAV9.

81. Un casete de ácido nucleico que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas), o al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3), en donde la proteína de unión a ADN es capaz de modular la expresión de GRN.

82. El casete de ácido nucleico de la cláusula 81, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural se une selectivamente a una región que tiene SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336, o una región dentro de 5pb, 10pb, 50pb, 100pb, 200pb, o 500pb de las mismas.

83. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 81-82, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural es capaz de incrementar la expresión de GRN por un factor de al menos 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 50 o 100 veces en comparación con un control.

84. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 81-83, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende un dominio de unión a ADN que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

85. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 81-84, en donde la proteína de unión a ADN comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 44-45, 48-49, 54-55, 58-62, 67-77, 103, 112, 114, 268-282, 305-325, 337-350, 364, 295-299, 365-366; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

86. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las

cláusulas 81-85, en donde el casete es un vector viral.

87. El casete de ácido nucleico de cualquiera de las cláusulas 81-86, en donde el casete es un vector AAV.

88. Un vector que codifica para una proteína que modula SCN1A, en donde la proteína tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6-9, 13, 15, 57, 58, 61-62, 67-71, 74-75, 268-282, 295-299, 305-325, o 364-366.

89. Un vector que codifica para una proteína que modula SCN1A, en donde la proteína comprende un dominio de unión a ADN que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 22-25, 29-31, 84-85, 88, 90-92, 131-135, 371-372, 376, o 391-409.

90. El vector de cualquiera de las cláusulas 88-89, en donde la proteína reconoce una secuencia de unión a diana que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267.

91. Un vector que codifica para una proteína que modula GRN, en donde la proteína tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, 16, 59-60, 63-64, 72-73, 76-77, 112, o 337-350.

92. Un vector que codifica para una proteína que modula GRN, en donde la proteína comprende un dominio de unión a ADN que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 26, 32, 86-89, 93, 165-171, 112, o 377-390.

93. El vector de cualquiera de las cláusulas 91-92, en donde la proteína reconoce una secuencia de unión a diana

que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336.

94. El vector de cualquiera de las cláusulas 91-93, en donde el dominio de unión a ADN se fusiona a un dominio de transactivación de CITED2 o CITED4.

95. Un método para tratar una enfermedad o condición, que comprende poner en contacto una célula o un sujeto con una composición que comprende cualquiera de las cláusulas 1-94.

96. El método de la cláusula 95, en donde el sujeto es un animal, mamífero o humano.

97. Un método para tratar una enfermedad o condición, que comprende administrar una terapia génica que comprende un casete de ácido nucleico que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que comprende un dominio de unión a ADN, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural modula la expresión de un gen endógeno por un factor de al menos 5 veces, y en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas) o identidad de secuencia global a una

proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3).

98. El método de la cláusula 97, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural produce respuesta inmunitaria reducida o mínima cuando se expresa en una célula o *in vivo*.

99. El método de la cláusula 98, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural produce una respuesta inmunitaria que es comparable a una proteína humana que se presenta de manera natural, en donde comparable se refiere a un nivel dentro de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10% de la respuesta inmunitaria generada por la proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3).

100. El método de cualquiera de las cláusulas 92-99, en donde la respuesta inmunitaria se mide usando un ensayo elispot.

101. El método de cualquiera de las cláusulas 97-100, en donde la enfermedad o condición es síndrome de Dravet.

102. El método de cualquiera de las cláusulas 97-100, en donde la enfermedad o condición es demencia frontotemporal o demencia.

103. El método de cualquiera de las cláusulas 97-100, en donde la enfermedad o condición se selecciona del grupo que consiste de: Síndrome de Dravet, enfermedad de Parkinson,

enfermedad de Alzheimer, hipofunción GABAérgica, hiperactividad neuronal, epilepsia y convulsiones.

104. El método de cualquiera de las cláusulas 97-100, en donde la enfermedad o condición se selecciona del grupo que consiste de: neurodegeneración, neuroinflamación, degeneración lobular frontotemporal, demencia frontotemporal, demencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y aterosclerosis.

105. El método de cualquiera de las cláusulas 97-104, en donde la proteína de unión a ADN tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 44-45, 48-49, 54-55, 58-62, 67-77, 103, 112, 114, 268-282, 305-325, 337-350, 364, 295-299, 365-366.

106. El método de cualquiera de las cláusulas 97-105, en donde la proteína de unión a ADN tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416.

107. El método de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio de unión a ADN que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84 -93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416.

108. El método de cualquiera de las cláusulas 97-107, en donde la proteína de unión a ADN reconoce una secuencia de unión a diana que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 35-

38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336.

109. El método de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el gen endógeno es SCN1A o GRN.

110. El método de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde la terapia génica es AAV.

111. Un método para modular la expresión de un gen endógeno, el método que comprende administrar un casete de ácido nucleico que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que comprende una pluralidad de dominios de unión a ADN que se unen colectivamente a un sitio de unión a diana que tiene al menos 21 bases en un genoma humano y que tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas) o identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3).

112. El método de la cláusula 111, en donde la proteína que se presenta de manera natural es EGR1 o EGR3 humana.

113. El método de cualquiera de las cláusulas 111-112, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio

de CITED2 o CITED4.

114. Un método para tratar una enfermedad o condición, el método que comprende administrar un vector AAV que comprende una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas) o de identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3) y que comprende al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 dedos de zinc o dominios de unión a ADN.

115. El método de la cláusula 114, en donde la proteína humana es EGR1 o EGR3.

116. El método de cualquiera de las cláusulas 114-115, en donde la enfermedad o condición es una enfermedad o condición de CNS.

117. El método de la cláusula 116, en donde la enfermedad o condición es síndrome de Dravet.

118. El método de la cláusula 116, en donde la enfermedad o condición es demencia o demencia frontotemporal.

119. El método de cualquiera de las cláusulas 114-115, en donde la identidad de secuencia se mide usando un

algoritmo Needleman–Wunsch para la identidad de secuencia global.

120. El método de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde la identidad de secuencia se mide usando un algoritmo Smith–Waterman para identidad de secuencia local.

121. Un método para tratar el síndrome de Dravet, que comprende administrar un vector que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas), o identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3), en donde la proteína de unión a ADN es capaz de activar o incrementar la expresión de SCN1A endógeno.

122. El método de la cláusula 121, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural se une selectivamente a una región que tiene cualquiera de SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336, o una región dentro de 5pb, 10pb, 50pb, 100pb, 200pb, o 500pb de las mismas.

123. El método de cualquiera de las cláusulas 121-122, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural es capaz de incrementar la expresión de SCN1A por un factor de al menos 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 50 o 100 veces en comparación con un control.

124. El método de cualquiera de las cláusulas 121-123, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende un dominio de unión a ADN que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

125. El método de cualquiera de las cláusulas 121-124, en donde el vector es un vector viral.

126. El método de la cláusula 125, en donde el vector es un vector AAV.

127. Un método para tratar demencia frontotemporal o demencia, que comprende administrar un vector que codifica para una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que tiene al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia local a un correspondiente dominio de una proteína humana que se presenta de manera

natural (por ejemplo, dentro de un dominio de unión a ADN o un dominio efector de transcripción entre las dos proteínas), o identidad de secuencia global a una proteína humana que se presenta de manera natural (por ejemplo, EGR1 o EGR3), en donde la proteína de unión a ADN es capaz de activar o incrementar la expresión de GRN endógena o una isoforma de la misma.

128. El método de la cláusula 127, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural se une selectivamente a una región que tiene SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336, o una región dentro de 5pb, 10pb, 50pb, 100pb, 200pb, o 500pb de las mismas.

129. El método de cualquiera de las cláusulas 127-128, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural es capaz de incrementar la expresión de GRN por un factor de al menos 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 50 o 100 veces en comparación con un control.

130. El método de cualquiera de las cláusulas 127-129, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural comprende un dominio de unión a ADN que tiene una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 26, 32, 86-89, 93, 165-171, 165-171, o 377-390; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de

secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

131. El método de cualquiera de las cláusulas 127-130, en donde la proteína de unión a ADN comprende una secuencia de: (i) SEQ ID NO: 10, 16, 59-60, 63-64, 72-73, 76, 77, 112, o 337-350; (ii) una variante o fragmento funcional de las mismas; o (iii) una secuencia que tiene al menos 90% de identidad de secuencia (o al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia) a cualquiera de (i) o (ii).

132. El método de cualquiera de las cláusulas 127-131, en donde el vector es un vector viral.

133. El método de la cláusula 133, en donde el vector es un vector AAV.

[**0410**] En la presente se proporcionan casetes de expresión que comprenden un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural, tal como casetes de expresión que incrementan la expresión del gen SCN1A, y métodos para usar los mismos en el tratamiento de una condición asociada con el gen SCN1A. También se proporcionan en la presente proteínas de unión a ADN que no se presentan de manera natural que modulan la expresión de una proteína neurológica, tal como SCN1A.

[**0411**] Diferentes modalidades de esta descripción se definen con referencia a las siguientes cláusulas enumeradas:

1. Un casete de expresión, que comprende un modulador

transcripcional que no se presenta de manera natural el cual incrementa la expresión del gen SCN1A.

2. El casete de expresión de la cláusula 1, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una región genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267, o una región dentro de al menos 200 pb de las mismas.

3. El casete de expresión de la cláusula 1-2, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una región genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267, o una región dentro de al menos 100 pb de las mismas.

4. El casete de expresión de la cláusula 1-2, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una región genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267, o una región dentro de al menos 50 pb de las mismas.

5. El casete de expresión de la cláusula 1-2, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una región genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267, o una región dentro de al menos

10 pb de las mismas.

6. El casete de expresión de la cláusula 1-2, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una región genómica que corresponde a la región de hg19 que coincide con una secuencia seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267.

7. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el casete de expresión es parte de un vector viral.

8. El casete de expresión de la cláusula 7, en donde el vector viral es un virus AAV.

9. El casete de expresión de la cláusula 8, en donde el virus AAV es un virus AAV9 o un virus scAAV9.

10. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el modulador transcripcional comprende un dominio de unión a ADN y un dominio de activación de transcripción.

11. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el dominio de activación de transcripción comprende una parte de al menos una proteína seleccionada de la lista que consiste de: VPR, VP64, VP16, VP128, y p300.

12. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el dominio de activación de

transcripción comprende 95-100 o 114, o un dominio con al menos 80% de similitud de secuencia con el mismo.

13. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el dominio de unión a ADN es un dominio de dedo de zinc.

14. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el dominio de unión a ADN es una proteína Cas.

15. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el casete de expresión comprende además un ARNg.

16. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el ARNg comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336, o una secuencia con al menos 80% de similitud de secuencia con las mismas.

17. El casete de expresión de la cláusula 16, en donde el ARNg comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336, o una secuencia con al menos 90% de similitud de secuencia a las mismas, con al menos 95% de similitud de secuencia a las mismas, o con al menos 99% de similitud de secuencia a las mismas.

18. El casete de expresión de cualquiera de las

cláusulas anteriores, en donde la proteína Cas es una proteína Cas inactivada por nucleasa.

19. El casete de expresión de la cláusula 18, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas9 inactivada por nucleasa.

20. El casete de expresión de la cláusula 19, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas3 inactivada por nucleasa.

21. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas de reivindicaciones, en donde el dominio de unión a ADN es un dominio de unión a ADN efector TAL.

22. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador que activa la expresión del modulador transcripcional que no se presenta de manera natural a un nivel más alto en neuronas GABAérgicas que en otros tipos de células.

23. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador que es menor de 100 pb y activa alta expresión del modulador transcripcional que no se presenta de manera natural.

24. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el casete de expresión comprende además al menos un elemento regulador seleccionado

del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 178-179, 182-185, o 417, o una secuencia con al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de identidad de secuencia a las mismas.

25. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NO: 6-9, 13-15, 44-45, 48-49, 54-55, 58-62, 67-77, 103, 112, 114, 268-282, 305-325, 337-350, 364, 295-299, 365-366, o tiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de identidad de secuencia a las mismas.

26. El casete de expresión de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84 -93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416.

27. Una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que se une al menos a una ubicación genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336, o una ubicación genómica dentro de 200 pb, dentro de 100 pb, o dentro de 50 pb de las mismas.

28. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural

se une a al menos una ubicación genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-38, 105-111, 113, 136, 195-211, 224-238, 240-267, o 330-336.

29. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, que comprende además un dominio de modulación de transcripción.

30. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de la cláusula 29, en donde el dominio de modulación de transcripción es un dominio de activación de transcripción.

31. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de las cláusulas 29-30, en donde el dominio de activación de transcripción es un dominio de activación de transcripción de un factor de transcripción.

32. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de las cláusulas anteriores, en donde el dominio de activación de transcripción comprende un dominio de activación de transcripción de un factor de transcripción de dedo de zinc.

33. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende una parte de al menos una proteína seleccionada de la lista que consiste de: VPR, VP64, VP16, y VP128, o una proteína homóloga a las mismas.

34. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende cualquiera de SEQ ID NO: 95-100 o 114, o un dominio con al menos 80% de similitud de secuencia a las mismas.

35. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende cualquiera de SEQ ID NO: 95-100 o 114, o un dominio con al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de similitud de secuencia a las mismas.

36. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de modulación de transcripción comprende una proteína de co-activación transcripcional, o un dominio de un dominio de co-activación transcripcional.

37. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de la cláusula 36, en donde el dominio de co-activación transcripcional comprende todo o una parte de p300.

38. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio de dedo de zinc.

39. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el

dominio de dedo de zinc comprende cuatro dedos de zinc.

40. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende cinco dedos de zinc.

41. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende seis dedos de zinc.

42. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende siete dedos de zinc.

43. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende ocho dedos de zinc.

44. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende nueve dedos de zinc.

45. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN comprende una proteína Cas.

46. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de la cláusula 45, en donde la proteína Cas es una proteína Cas inactivada por nucleasa.

47. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de la cláusula 46, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas9 inactivada por nucleasa.

48. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de la cláusula 46, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas3 inactivada por nucleasa.

49. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio de unión a ADN efector TAL.

50. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NO: 22-26, 29-32, 84-93, 112, 131-135, 165-171, 371-372, 376-409, o 412-416, o tiene al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de identidad de secuencia a las mismas.

51. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural modula la expresión de SCN1A cuando se transfecta en una célula.

52. Un método para modular la expresión de SCN1A en una célula al administrar un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural que se une a al menos una ubicación genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267, o una ubicación genómica dentro de 200 pb, dentro de 100

pb, o dentro de 20 pb de las mismas.

53. El método de la cláusula 52, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une al menos a una ubicación genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267.

54. El método de la cláusula 52-53, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una secuencia seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 35-37, 101, 105-111, 136, 195-211, 224-238, o 240-267.

55. Un método para modular la expresión de SCN1A en una célula al administrar un casete de expresión que codifica para un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural.

56. El método de la cláusula 55, en donde el casete de expresión es parte de un vector viral.

57. El método de la cláusula 56, en donde el vector viral es un virus AAV.

58. El método de la cláusula 57, en donde el virus AAV es un virus AAV9 o un virus scAAV9.

59. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la célula es una célula de parvalbúmina (PV).

60. El método de cualquiera de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde la célula está dentro de un

organismo.

61. El método de la cláusula 60, en donde el organismo es un mamífero.

62. El método de la cláusula 60, en donde el organismo es un humano.

63. El método de la cláusula 60, en donde la modulación de la expresión de SCN1A trata una enfermedad o trastorno.

64. El método de la cláusula 60, en donde el trastorno es un trastorno de sistema nervioso central.

65. El método de la cláusula 60, en donde el trastorno es enfermedad de Parkinson.

66. El método de la cláusula 60, en donde el trastorno es síndrome de Dravet.

67. El método de la cláusula 60, en donde el trastorno es enfermedad de Alzheimer.

68. El método de la cláusula 60, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es hipofunción GABAérgica.

69. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el tratamiento del trastorno de sistema nervioso central comprende incrementar la función de células de PV.

70. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es hiperactividad neuronal.

71. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el tratamiento del trastorno de sistema nervioso central comprende reducir la hiperactividad neuronal.

72. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central son convulsiones.

73. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el tratamiento del trastorno de sistema nervioso central comprende reducir la frecuencia de convulsiones.

74. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el tratamiento del trastorno de sistema nervioso central comprende reducir la severidad de convulsiones.

75. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el modulador transcripcional comprende un dominio de unión a ADN y un dominio de activación de transcripción.

76. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende un dominio de activación de transcripción de un factor de transcripción.

77. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende un dominio de activación de transcripción de un factor de transcripción de dedo de zinc.

78. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende una

parte de al menos una proteína seleccionada de la lista que consiste de: VPR, VP64, VP16, y VP128.

79. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende 95-100 o 114, o un dominio con al menos 80% de similitud de secuencia con el mismo.

80. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende una proteína de co-activación transcripcional, o un dominio de un dominio de co-activación transcripcional.

81. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación de transcripción comprende p300.

82. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es un dominio de dedo de zinc.

83. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es una proteína Cas.

84. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un ARNg.

85. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el ARNg comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 105-111 o 113, o una secuencia con al menos 80% de identidad de secuencia a las mismas.

86. El método de cualquier cláusula anterior, en

donde la proteína Cas es una proteína Cas inactivada por nucleasa.

87. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas9 inactivada por nucleasa.

88. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas3 inactivada por nucleasa.

89. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es un dominio de unión a ADN efector TAL.

90. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador específico para células de parvalbúmina.

91. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador que es menor de 100 pb y activa alta expresión.

92. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además al menos un elemento regulador seleccionado del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 178-179, 182-185, o 417, o una secuencia con al menos 80% de identidad de secuencia a las mismas.

93. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la modulación de la expresión de SCN1A comprende incrementar la expresión del gen SCN1A, o la proteína Nav1.1.

94. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el incremento en la expresión del gen SCN1A, o la proteína Nav1.1, se presenta específicamente en células de parvalbúmina.

95. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el incremento en la expresión del gen SCN1A, o la proteína Nav1.1, se presenta específicamente en neuronas de parvalbúmina.

96. El método de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NO: 95-100 o 114, o tiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de identidad de secuencia a las mismas.

[**0412**] En la presente se proporcionan casetes de expresión que comprenden un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural que incrementa la expresión de progranulina (GRN) o un fragmento funcional o variante de la misma, y métodos para usar estas composiciones en el tratamiento de una condición o enfermedad asociada con el gen GRN. También se proporcionan en la presente proteínas de unión a ADN que no se presentan de manera natural que modulan la expresión de GRN en una célula

[**0413**] Diferentes modalidades de esta descripción se definen con referencia a las siguientes cláusulas enumeradas:

1. Un casete de expresión, que comprende un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural el cual incrementa la expresión del gen GRN.

2. El casete de expresión de la cláusula 1, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una región genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336, o una región dentro de al menos 200 pb, dentro de al menos 100 pb, dentro de al menos 50 pb, o dentro de al menos 10 pb de las mismas.

3. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una región genómica que corresponde a la región de hg19 que coincide con una secuencia seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336.

4. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión es parte de un vector viral.

5. El casete de expresión de la cláusula 4, en donde el vector viral es un virus AAV.

6. El casete de expresión de la cláusula 5, en donde el virus AAV es un virus AAV9 o un virus scAAV9.

7. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el modulador transcripcional comprende un dominio de unión a ADN y un dominio de activación

transcripcional.

8. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende una parte de al menos una proteína seleccionada de la lista que consiste de: VPR, VP64, VP16, VP128, p65, y p300.

9. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende SEQ ID NO: 95-100 o 114, o un dominio con al menos 80% de similitud de secuencia a las mismas.

10. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es un dominio de dedo de zinc.

11. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es una proteína Cas.

12. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un ARNg.

13. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el ARNg comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 113, o una secuencia con al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de similitud de secuencia a la misma.

14. El casete de expresión de cualquier cláusula

anterior, en donde la proteína Cas es una proteína Cas inactivada por nucleasa (dCas).

15. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas9 inactivada por nucleasa (dCas9) o dSaCas9.

16. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es un dominio de unión a ADN efector TAL.

17. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador que activa la expresión del modulador transcripcional que no se presenta de manera natural a un nivel más alto en células seleccionadas del grupo que consiste de: células de sistema nervioso central, células de corteza frontal, células gliales, células microgliales y células estriadas que en otros tipos de células.

18. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador que es menor de 100 pb o menor de 50 pb y activa alta expresión del modulador transcripcional que no se presenta de manera natural.

19. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además una secuencia de acuerdo con SEQ ID NO: 178-179, 182-185, o 417, o una secuencia con al menos 80%, al menos 90%, al menos

95%, o al menos 99% de identidad de secuencia a las mismas.

20. El casete de expresión de cualquier cláusula anterior, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NO: 10, 16, 59-60, 63-64, 72-73, 76-77, 112, o 337-335, o tiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de identidad de secuencia a las mismas.

21. Una proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural que se une al menos a una ubicación genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336, o una ubicación genómica dentro de 200 pb, dentro de 100 pb, o dentro de 50 pb, o dentro de 10 pb de las mismas.

22. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural se une a al menos una ubicación genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336.

23. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, que comprende además un dominio de modulación de transcripción.

24. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de modulación de transcripción es un dominio de activación transcripcional.

25. La proteína de unión a ADN que no se presenta de

manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional es un dominio de activación transcripcional de un factor de transcripción.

26. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende un dominio de activación transcripcional de un factor de transcripción de dedo de zinc.

27. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende una parte de al menos una proteína seleccionada de la lista que consiste de: VPR, VP64, VP16, y VP128, o una proteína homóloga a las mismas.

28. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende SEQ ID NO: 95-100 o 114, o un dominio con al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de similitud de secuencia a la mismas.

29. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de modulación de transcripción comprende una proteína de co-activación transcripcional, o un dominio de un dominio de co-activación transcripcional.

30. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de la cláusula 29, en donde el dominio de co-activación transcripcional comprende todo o una parte de p300.

31. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio de dedo de zinc.

32. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende cuatro dedos de zinc.

33. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende cinco dedos de zinc.

34. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende seis dedos de zinc.

35. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende siete dedos de zinc.

36. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende ocho dedos de zinc.

37. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de dedo de zinc comprende nueve dedos de zinc.

38. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN comprende una proteína Cas.

39. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína Cas es una proteína Cas inactivada por nucleasa.

40. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas9 inactivada por nucleasa.

41. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN comprende un dominio de unión a ADN efector TAL.

42. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural se selecciona del grupo que comprende SEQ ID NO: 26, 32, 86-89, 93, 165-171, 112, o 377-390, o tiene al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99%, de identidad de secuencia a las mismas.

43. La proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína de unión a ADN que no se presenta de manera natural modula la expresión de GRN cuando se transfecta en una

célula.

44. Un método para modular la expresión de GRN en una célula al administrar un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural que se une a al menos una ubicación genómica seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336, o una ubicación genómica dentro de 200 pb, dentro de 100 pb, o dentro de 20 pb de las mismas.

45. El método de la cláusula 44, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de manera natural se une a una secuencia que consiste de: SEQ ID NO: 38, 113, o 330-336.

46. Un método para modular la expresión de GRN en una célula al administrar un casete de expresión que codifica para un modulador transcripcional que no se presenta de manera natural.

47. El método de la cláusula 46, en donde el casete de expresión es parte de un vector viral.

48. El método de la cláusula 47, en donde el vector viral es un virus AAV.

49. El método de la cláusula 48, en donde el virus AAV es un virus AAV9 o un virus scAAV9.

50. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la célula se selecciona del grupo que consiste de: células de sistema nervioso central, células de corteza

frontal, células gliales, células microgliales y células estriadas.

51. El método de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde la célula está dentro de un organismo.

52. El método de la cláusula 51, en donde el organismo es un mamífero.

53. El método de la cláusula 52, en donde el organismo es un humano.

54. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la modulación de la expresión de GRN trata una enfermedad o trastorno.

55. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el trastorno es un trastorno de sistema nervioso central.

56. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el trastorno es degeneración frontotemporal (FTD).

57. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el trastorno es enfermedad de Parkinson.

58. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el trastorno es enfermedad de Alzheimer.

59. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el trastorno es Aterosclerosis.

60. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es una presencia de cuerpos de Lewy.

61. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es haploinsuficiencia de progranulina (GRN).

62. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es déficit social.

63. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es anormalidad lisosomal.

64. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es pérdida de memoria.

65. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central es pérdida de coordinación motora.

66. El método de cualquier cláusula anterior, en donde un síntoma del trastorno de sistema nervioso central son temblores musculares.

67. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el tratamiento del trastorno de sistema nervioso central comprende reducir la frecuencia de temblores musculares.

68. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el tratamiento del trastorno de sistema nervioso central comprende reducir la severidad de temblores

musculares.

69. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el modulador transcripcional comprende un dominio de unión a ADN y un dominio de activación transcripcional.

70. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende un dominio de activación transcripcional de un factor de transcripción.

71. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende un dominio de activación transcripcional de un factor de transcripción de dedo de zinc.

72. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende una parte de al menos una proteína seleccionada de la lista que consiste de: VPR, VP64, VP16, y VP128.

73. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende SEQ ID NO: 95-100 o 114, o un dominio con al menos 80% de similitud de secuencia a las mismas.

74. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de activación transcripcional comprende una proteína de co-activación transcripcional, o un dominio de un dominio de co-activación transcripcional.

75. El método de cualquier cláusula anterior, en

donde el dominio de activación transcripcional comprende p300.

76. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es un dominio de dedo de zinc.

77. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es una proteína Cas.

78. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un ARNg.

79. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el ARNg comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste de: SEQ ID NO: 113, o una secuencia con al menos 80% de identidad de secuencia a la misma.

80. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína Cas es una proteína Cas inactivada por nucleasa.

81. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la proteína Cas inactivada por nucleasa es una Cas9 inactivada por nucleasa.

82. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el dominio de unión a ADN es un dominio de unión a ADN efector TAL.

83. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador no específico de célula.

84. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador que es menor de 100 pb y activa alta expresión.

85. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el casete de expresión comprende además un elemento regulador que comprende una secuencia de acuerdo con SEQ ID NO: 178-179, 182-185, o 417, o una secuencia con al menos 80% de identidad de secuencia a las mismas.

86. El método de cualquier cláusula anterior, en donde la modulación de la expresión de GRN comprende incrementar la expresión del gen GRN, o la proteína de progranulina.

87. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el incremento en la expresión del gen GRN, o la proteína de progranulina, se presenta en una pluralidad de tipos de células.

88. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el incremento en la expresión del gen GRN, o la proteína de progranulina, se presenta específicamente en células seleccionadas del grupo que consiste de: células de sistema nervioso central, células de corteza frontal, células gliales, células microgliales y células estriadas que en otros tipos de células.

89. El método de cualquier cláusula anterior, en donde el modulador transcripcional que no se presenta de

manera natural se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NO: 10, 16, 59-60, 72-72, 76-77, 112, o 337-350, o tiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de identidad de secuencia a las mismas.

FIG. 1

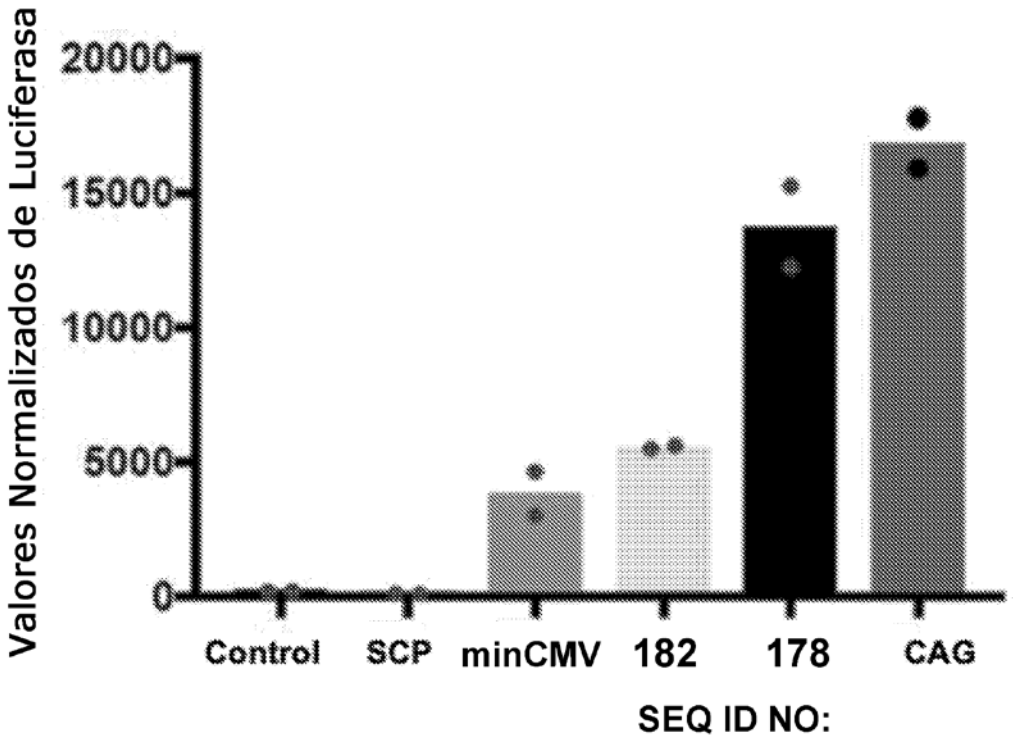
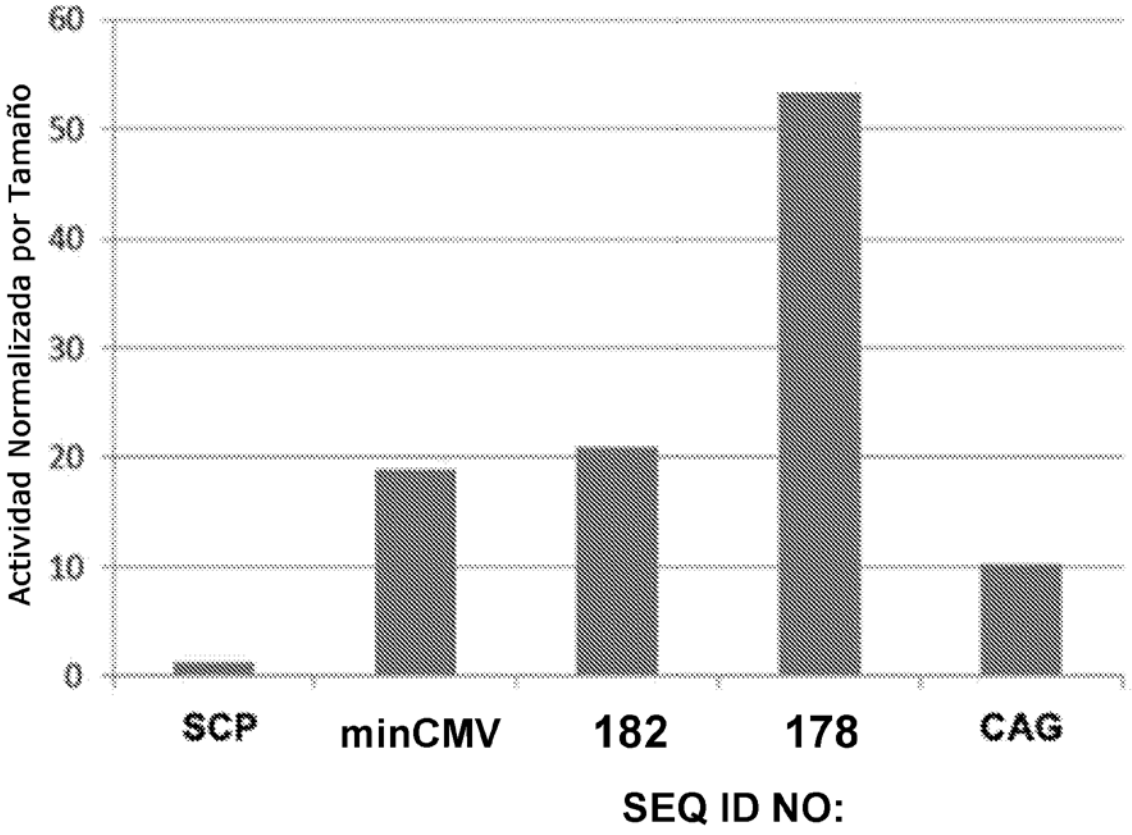

Valores Normalizados de Luciferasa
20000
15000
10000
5000
0
Control
SCP
minCMV
182
178
CAG
SEQ ID NO:

FIG. 2


60
50
40
30
20
10
0
Actividad Normalizada por Tamaño
SCP
minCMV
182
178
CAG
SEQ ID NO:

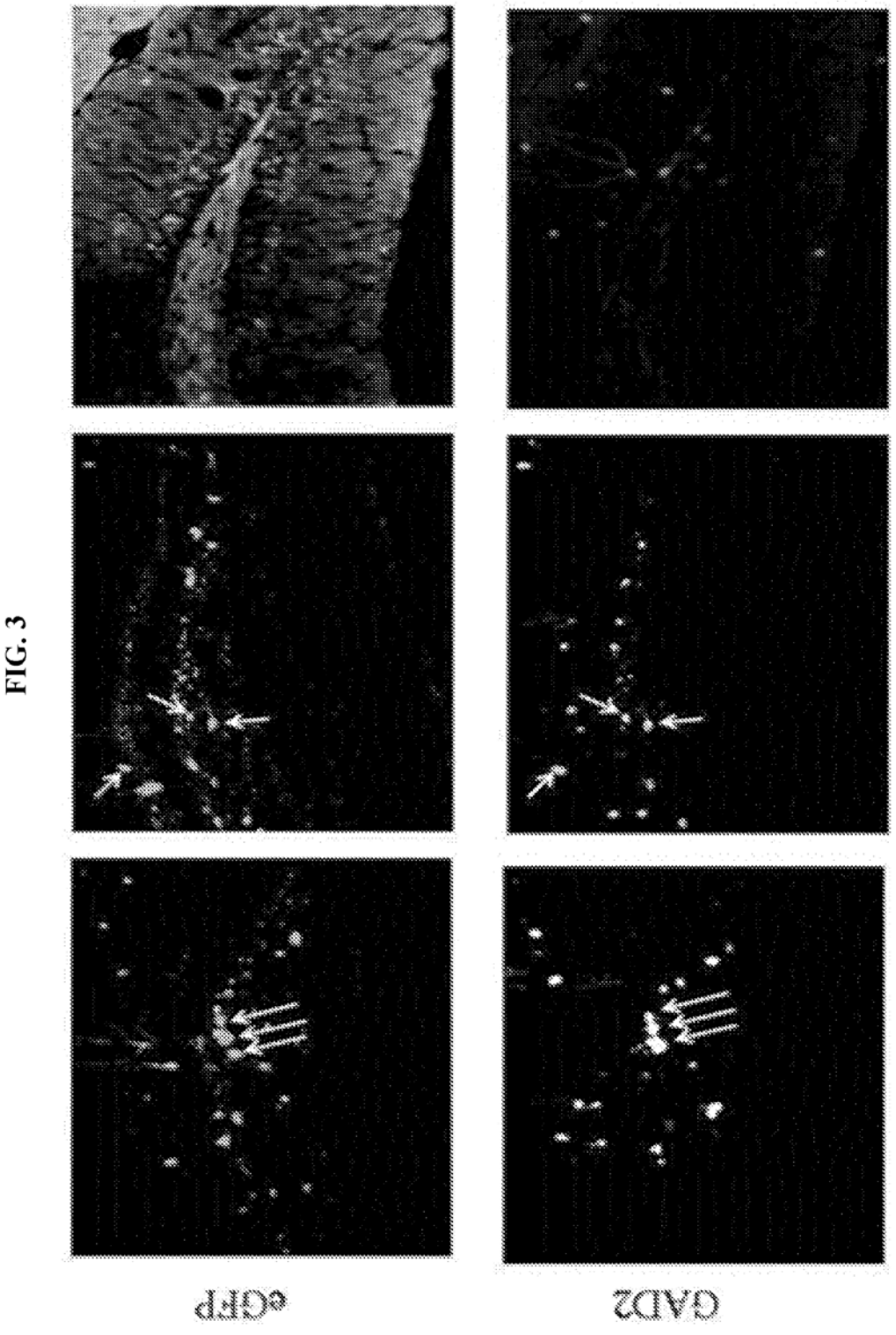


FIG. 3

FIG. 4

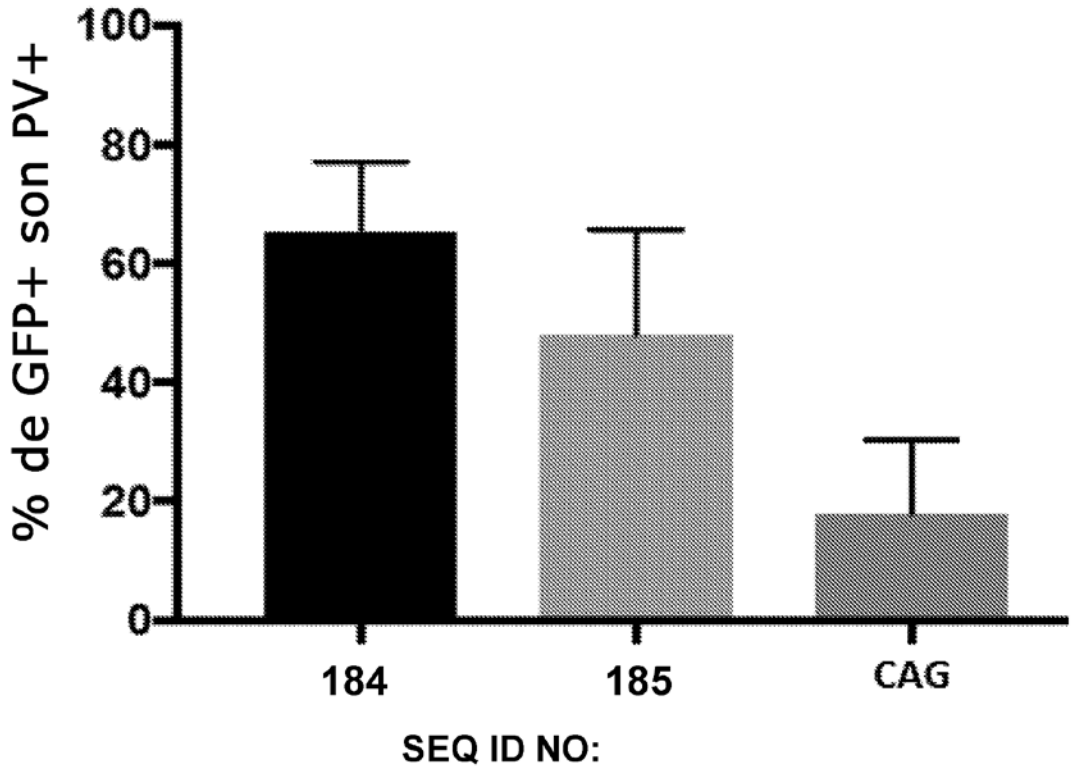


FIG. 5

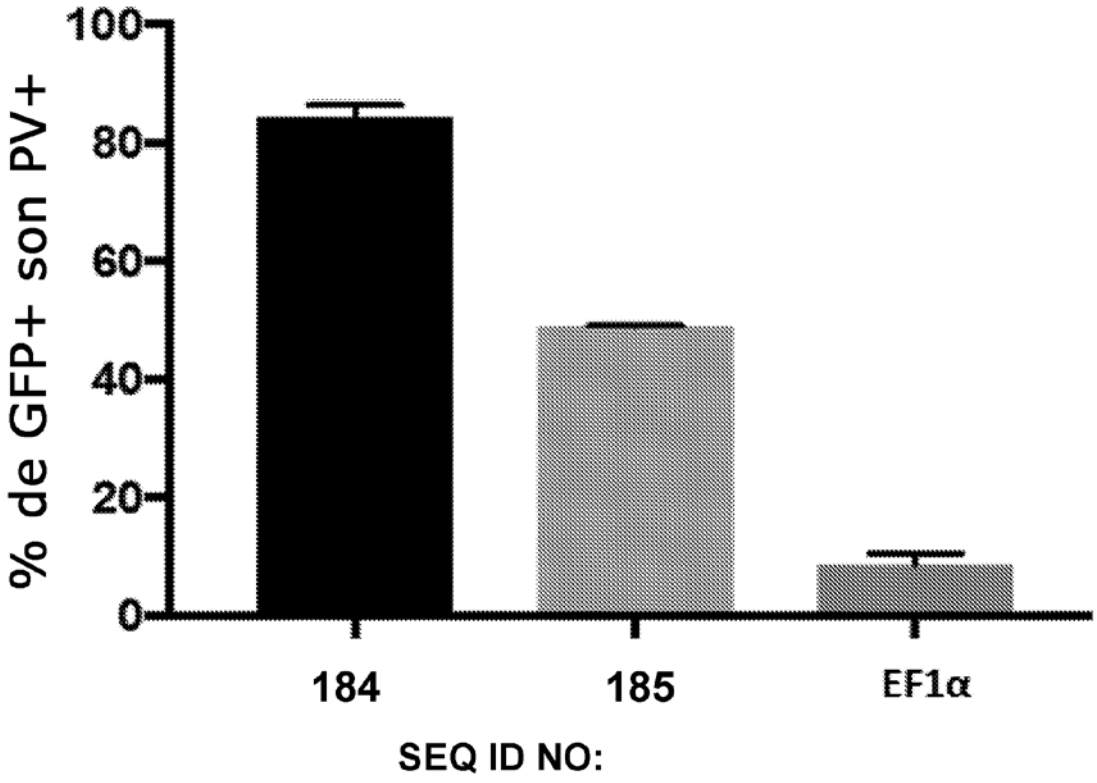


FIG. 6

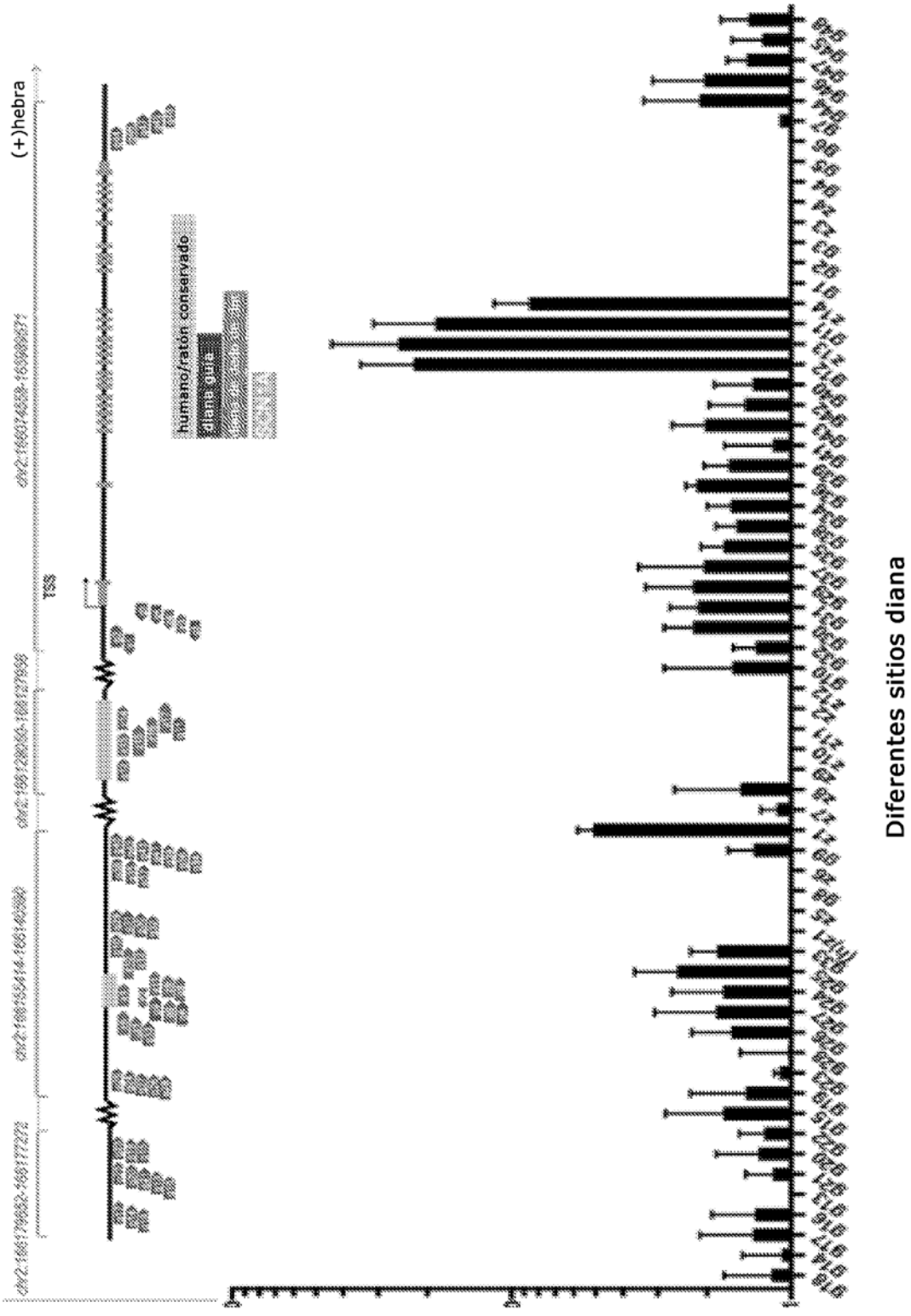

(+)hebra
TSS
humano/ratón conservado
diana guía
Diferentes sitios diana

FIG. 7

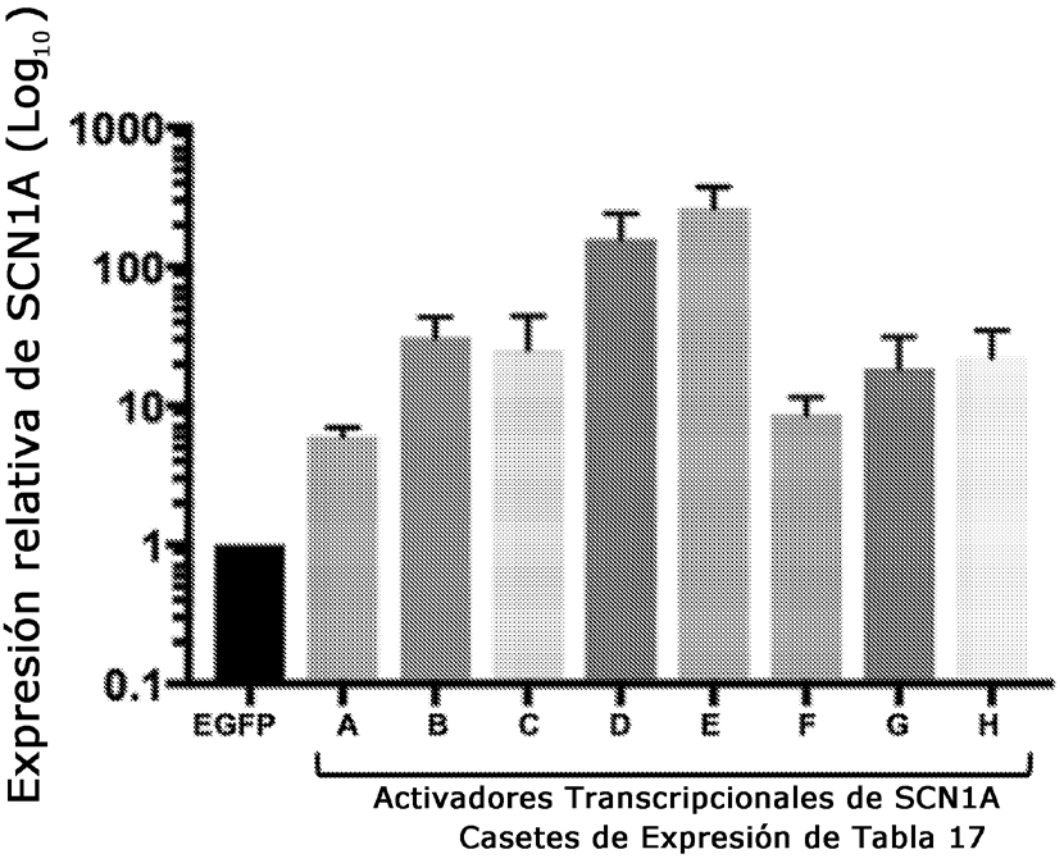

Expresión relativa de SCN1A (Log10)
1000
100
10
1
0.1
EGFP
A
B
C
D
E
F
G
H
Activadores Transcripcionales de SCN1A
Casetes de Expresión de Tabla 17

FIG. 8

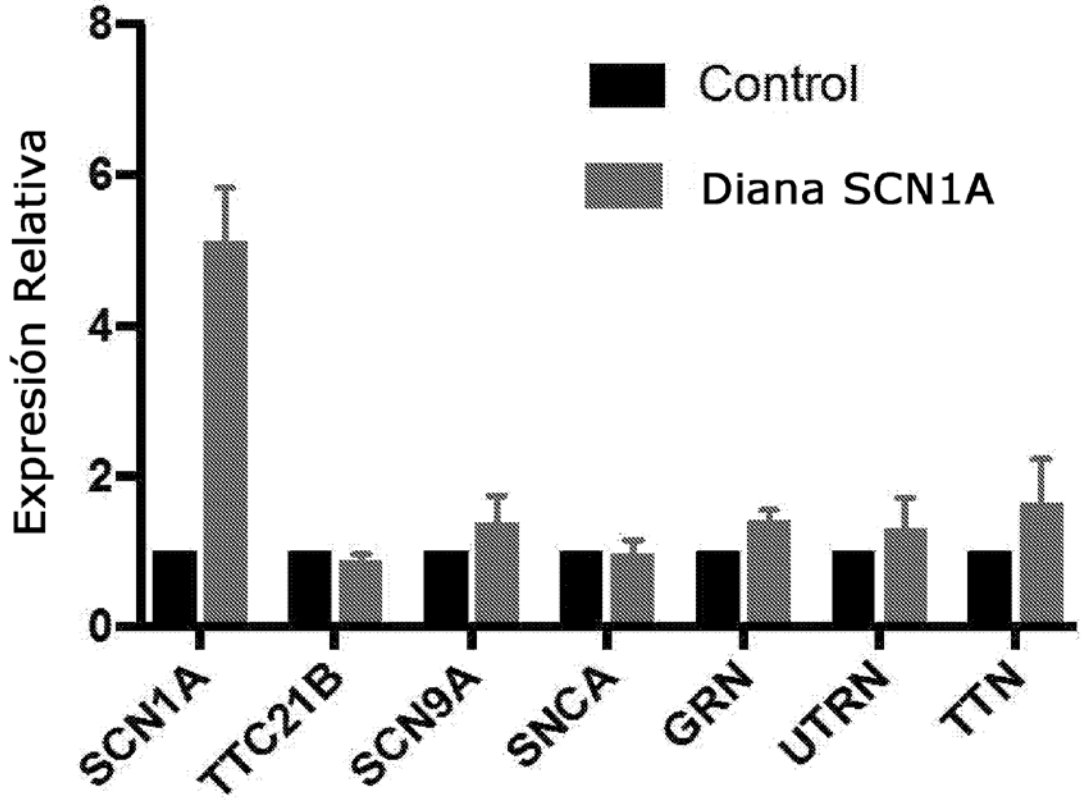

Expresión Relativa
8
6
4
2
0
Control
Diana SCN1A
SCN1A
TTC21B
SCN9A
SNCA
GRN
UTRN
TTN

FIG. 9A

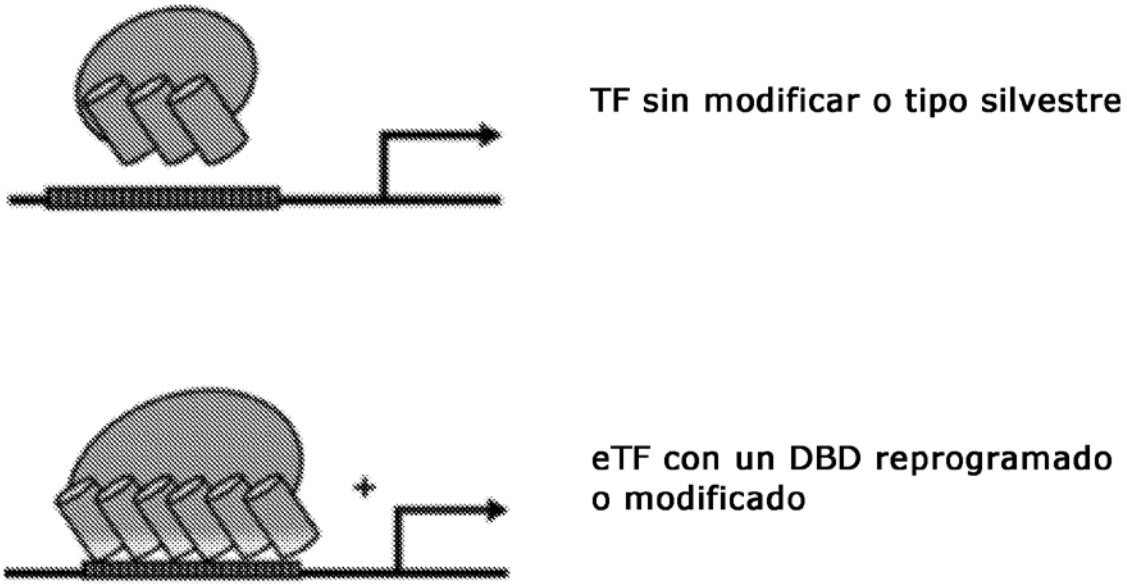
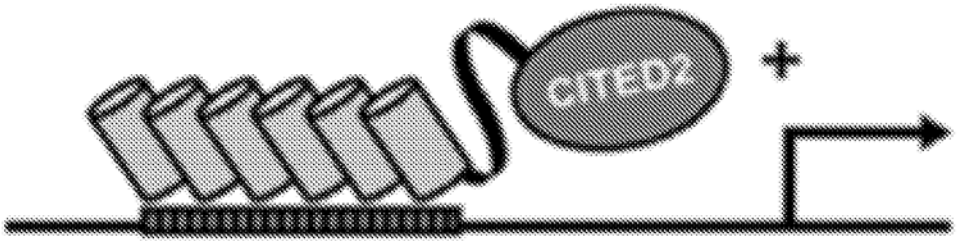


FIG. 9B



BDB de un TF que se presenta de manera natural



BDB fusionado a un dominio activador transcripcional humano

FIG. 10

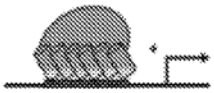
		Porcentaje de Conservación	Tamaño (pb)
eTF		>90%	1,000-1,800
dCas9		0%	3,900
ZFP		55%	800-900

FIG. 11

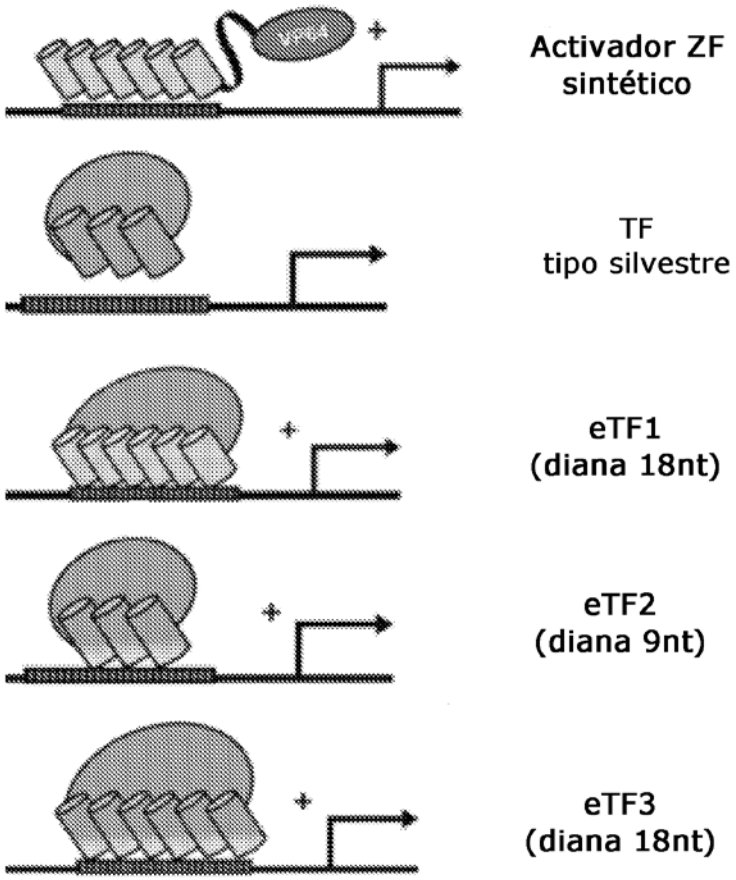


FIG. 12A

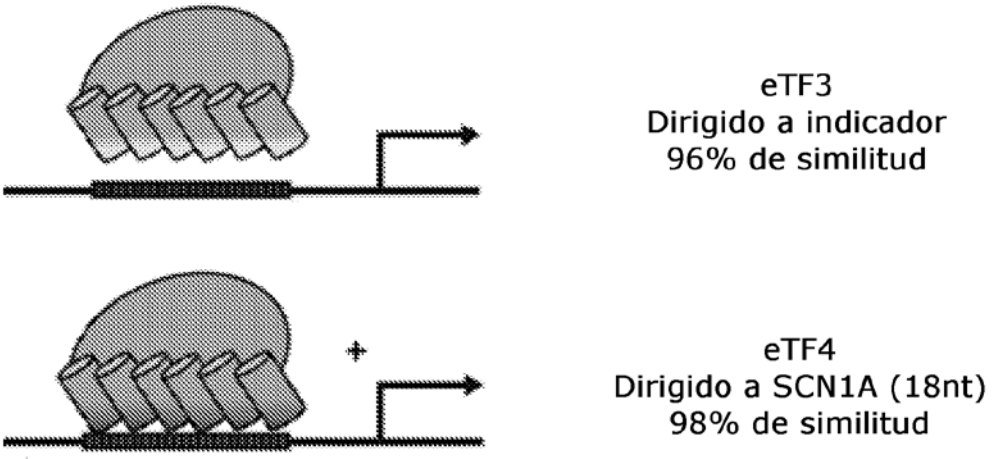


FIG. 12B

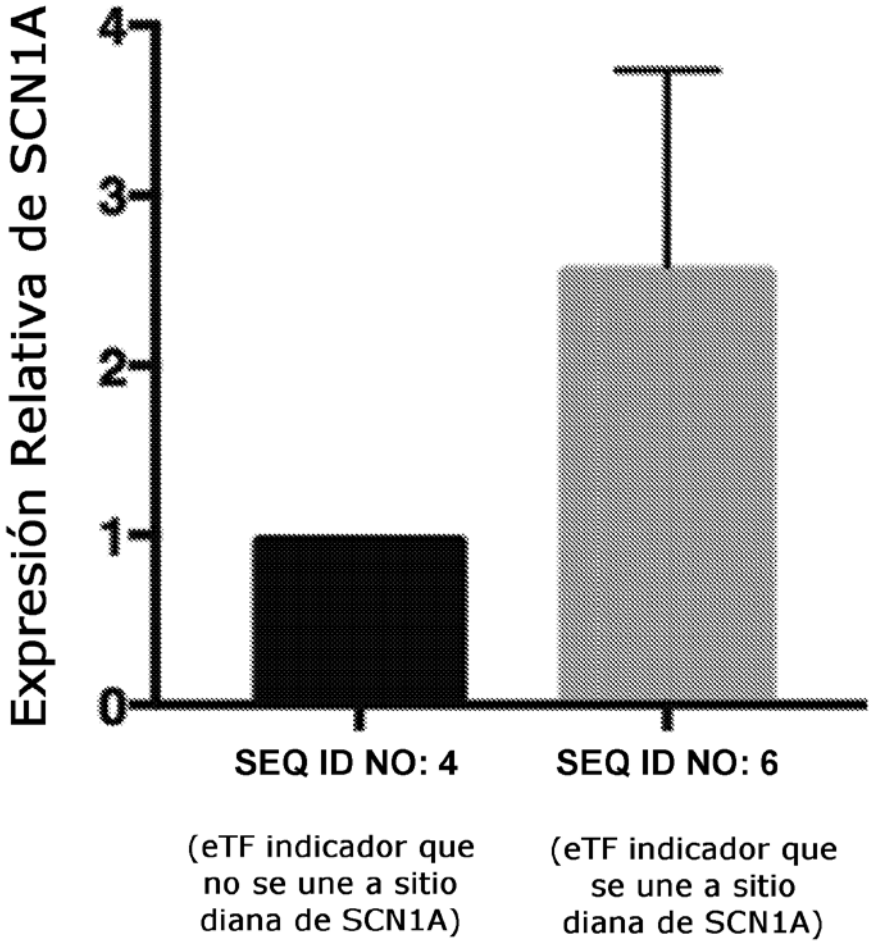


FIG. 13A

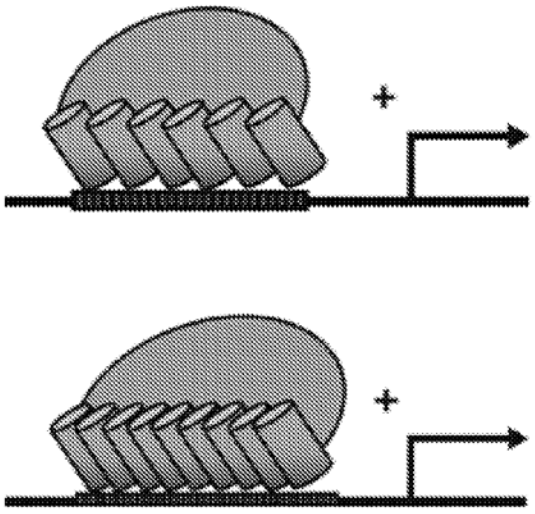


FIG. 13B

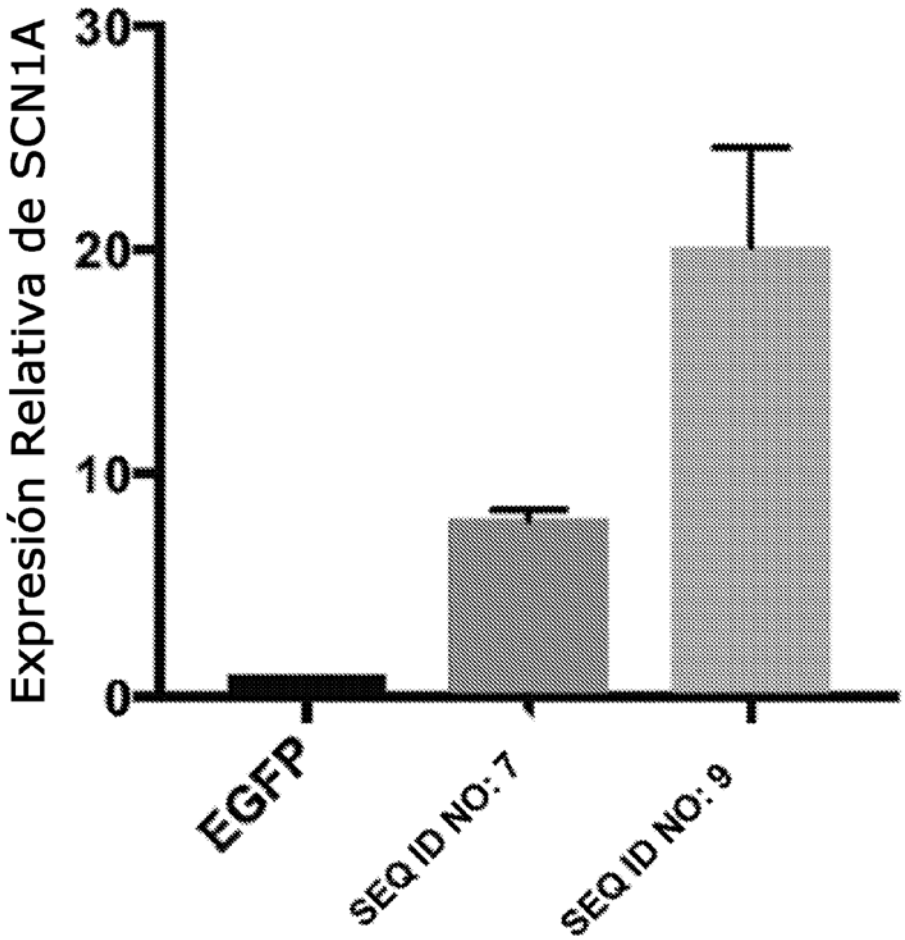


FIG. 14

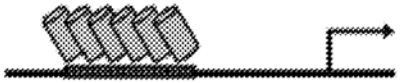
		Dominio de unión a ADN	Dominio de activación
Dominio de unión a ADN humano Dominio de No Activación		85%	N/A
Dominio de unión a ADN humano Dominio de Activación Viral		85%	0%
Dominio de unión a ADN humano Dominio de Activación Humana		85%	100%

FIG. 15

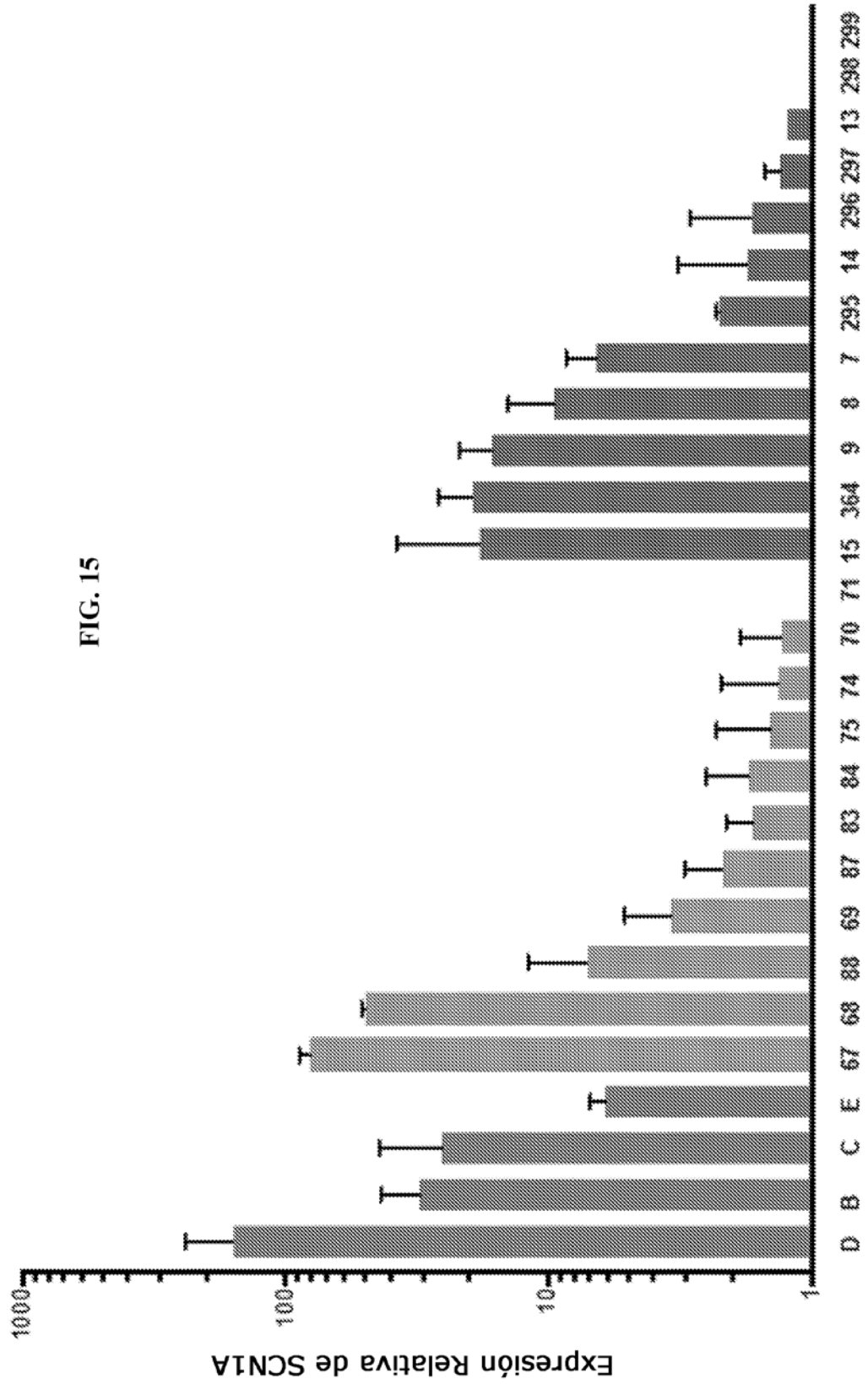

Expresión Relativa de SCN1A
1000
100
10
1
D B C E 67 68 88 69 87 83 84 75 74 70 71 15 364 9 8 7 295 14 296 297 13 298 299
SEQ ID NOs:
(Casetes de Expresión de Tabla 17)

FIG. 16A

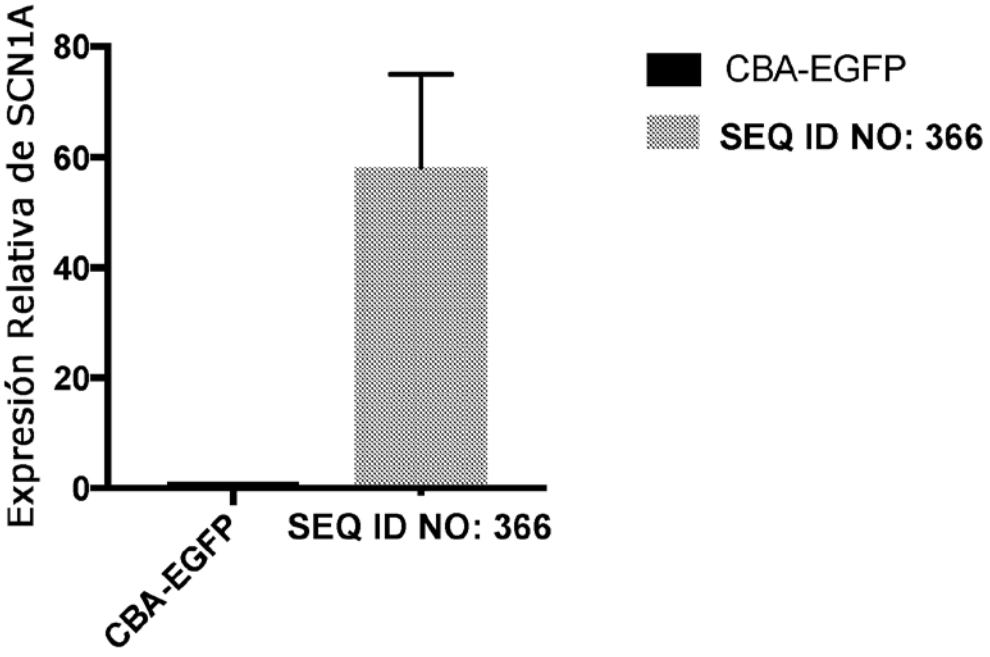


FIG. 16B

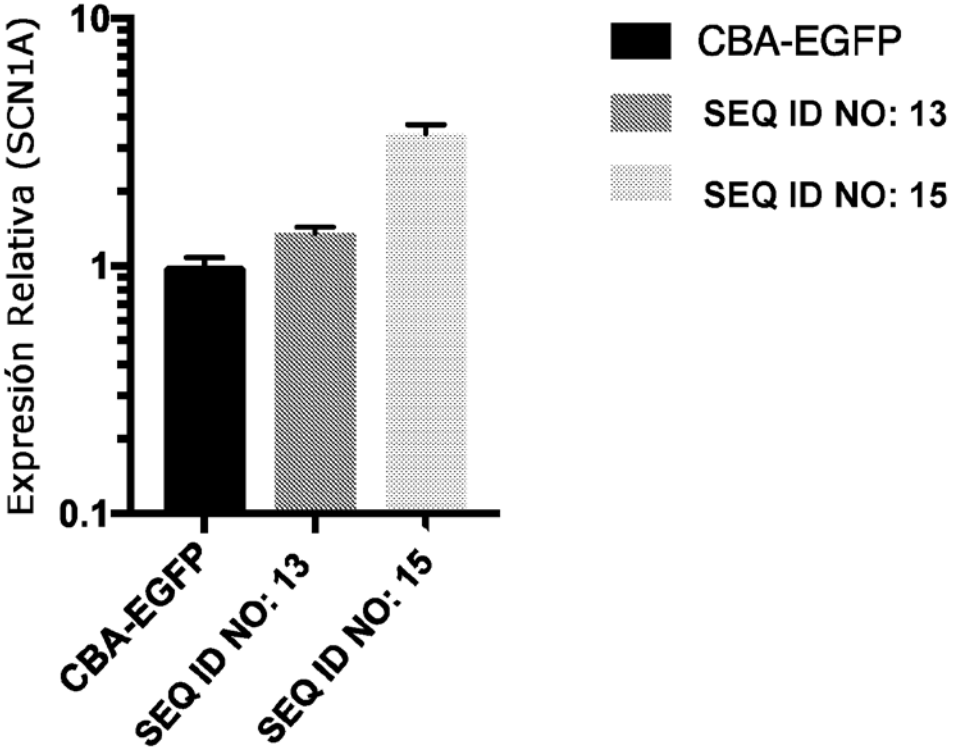


FIG. 17

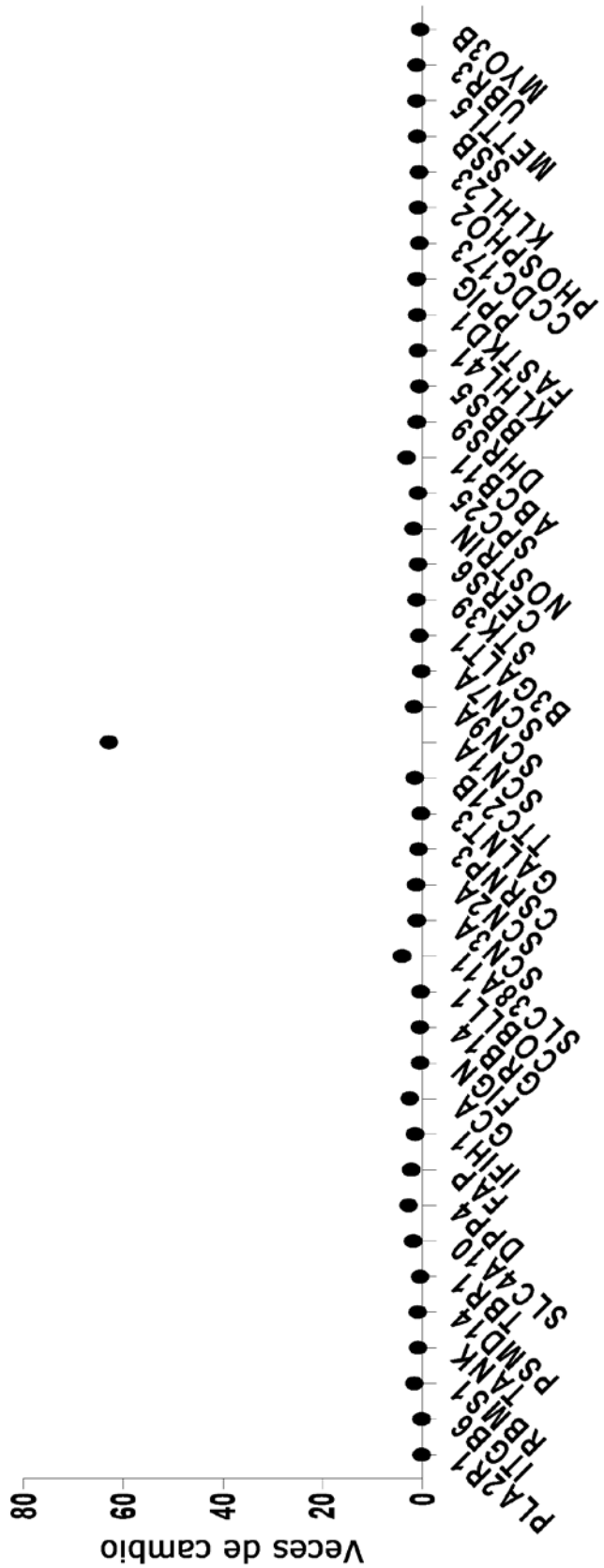


FIG. 18A

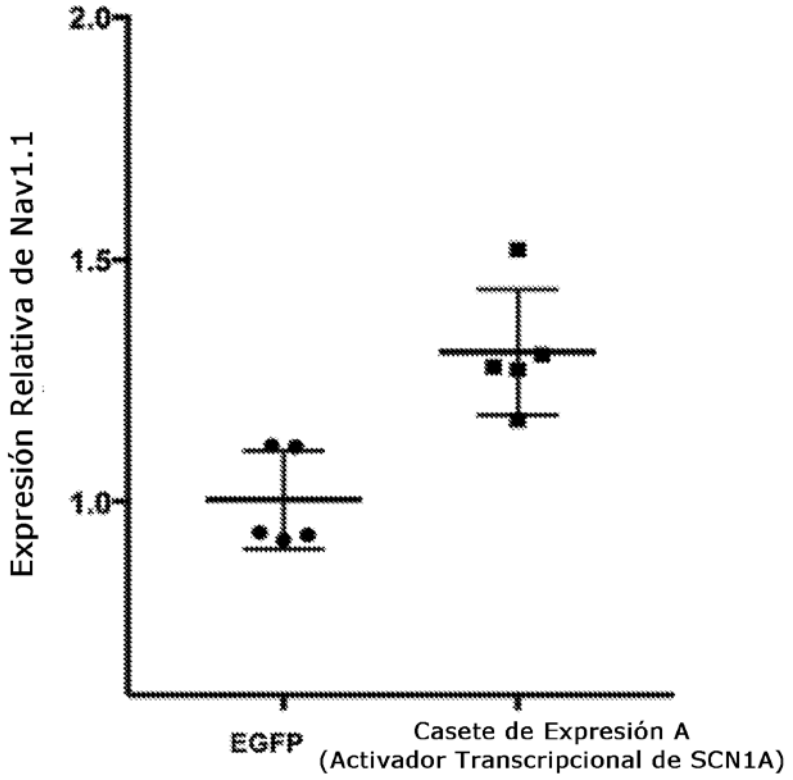


FIG. 18B

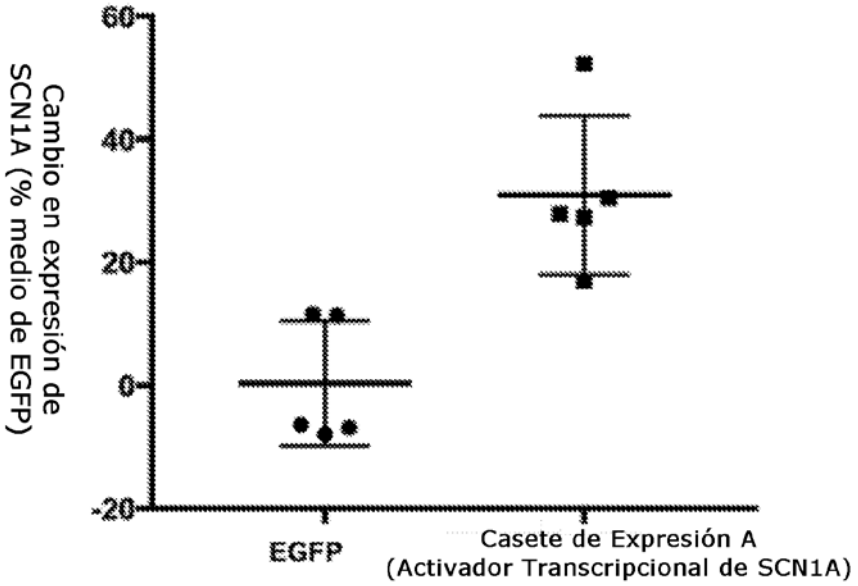


FIG. 19A

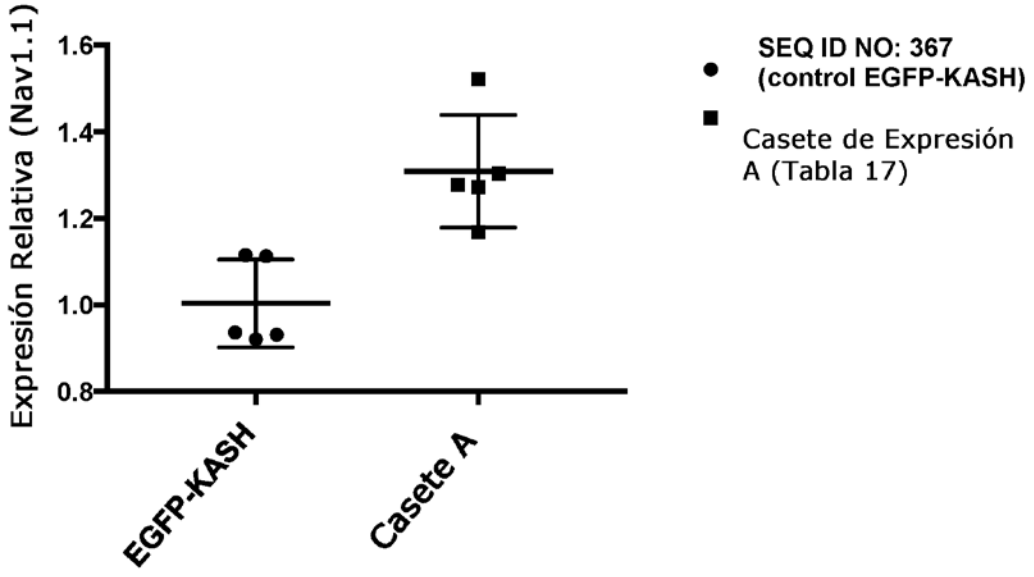


FIG. 19B

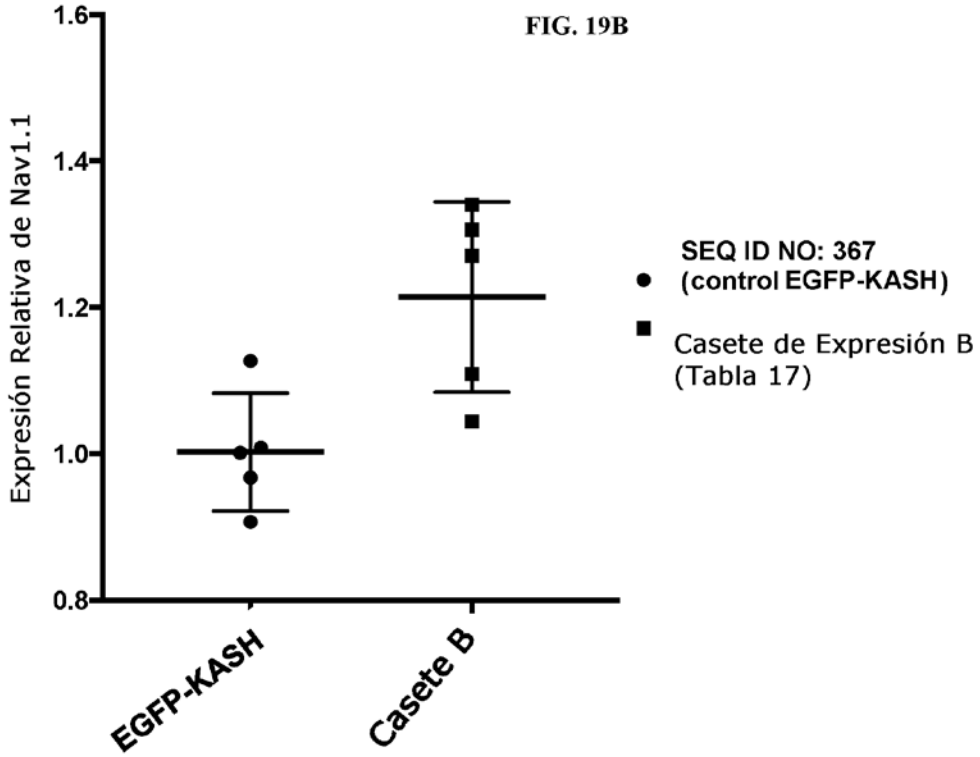


FIG. 19C

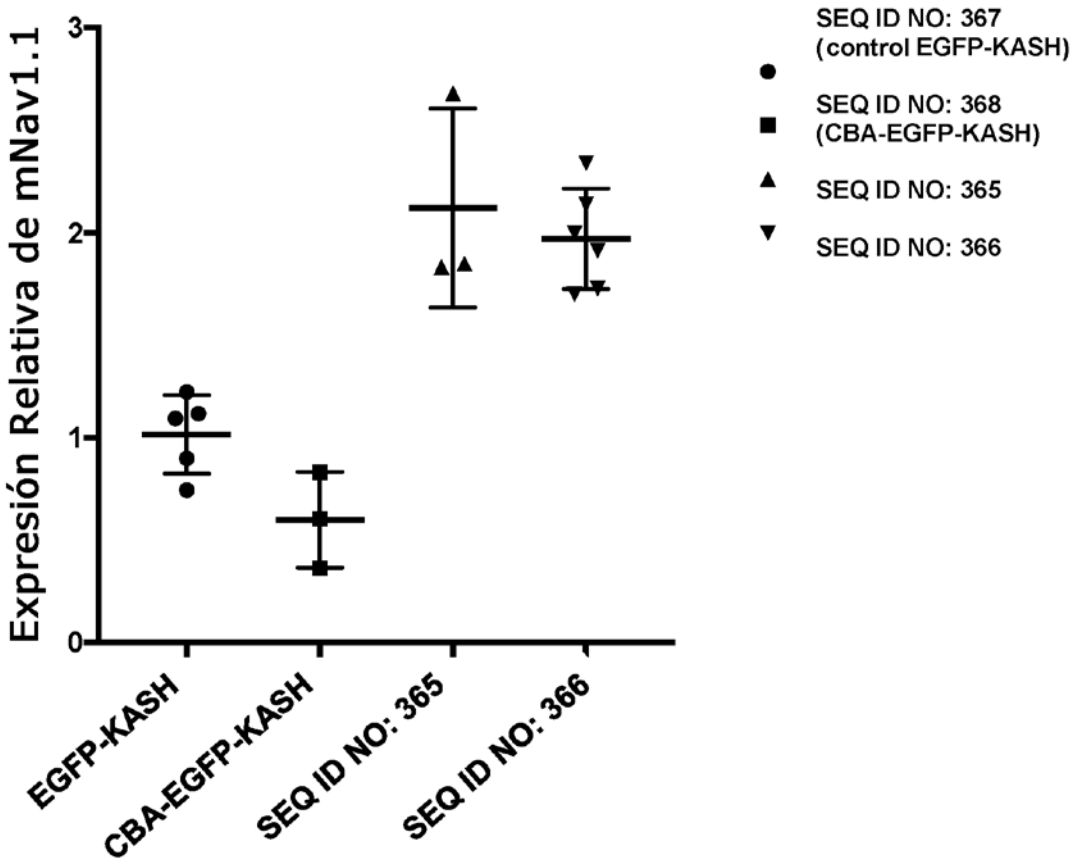

Expresión Relativa de mNav1.1
3
2
1
0
EGFP-KASH
CBA-EGFP-KASH
SEQ ID NO: 365
SEQ ID NO: 366
SEQ ID NO: 367
(control EGFP-KASH)
SEQ ID NO: 368
(CBA-EGFP-KASH)
SEQ ID NO: 365
SEQ ID NO: 366

FIG. 20A

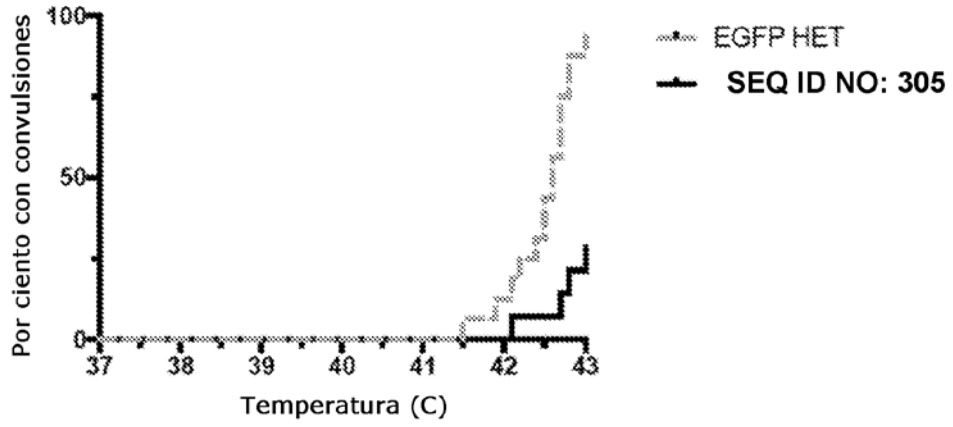


FIG. 20B

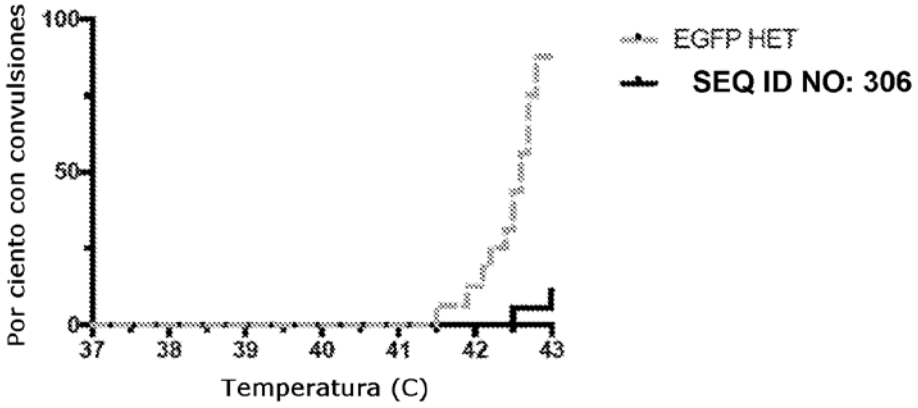


FIG. 20C

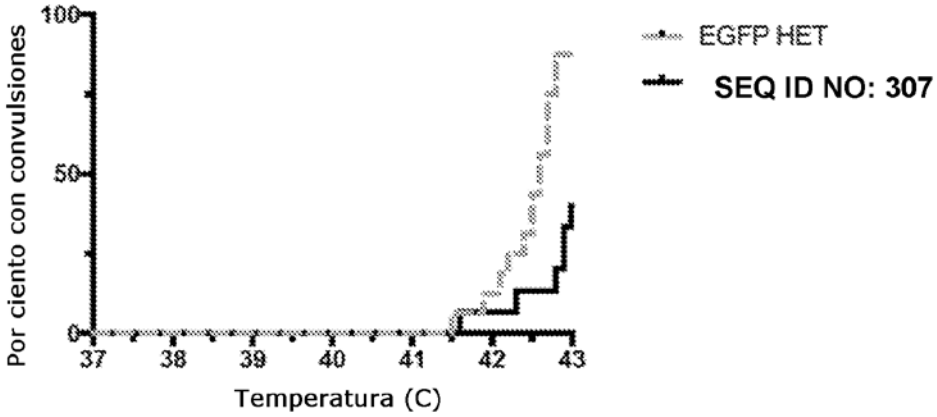


FIG. 20D

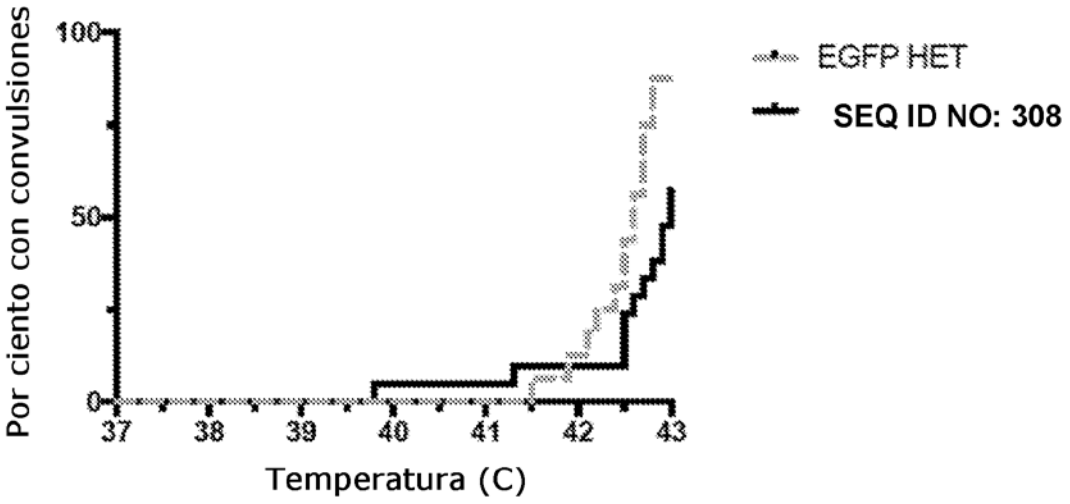


FIG. 20E

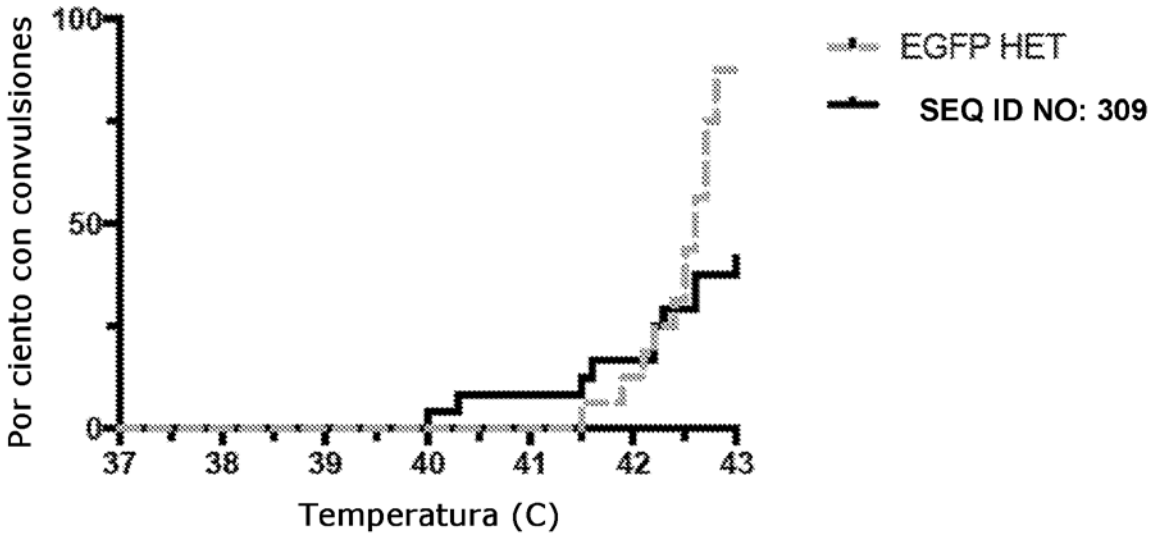


FIG. 21A

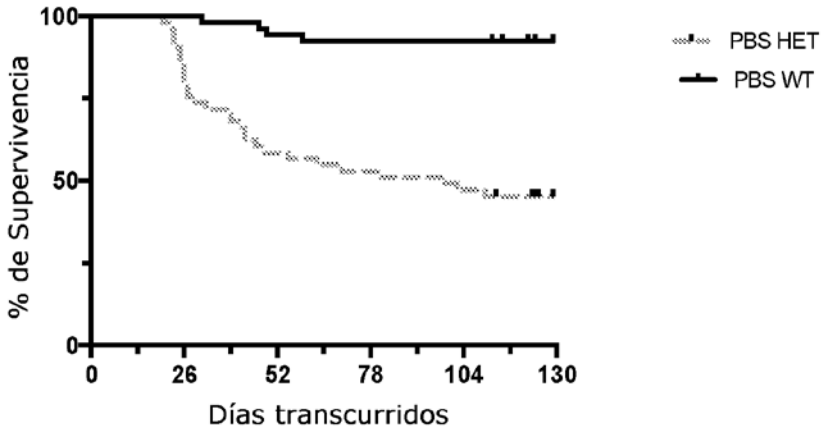


FIG. 21B

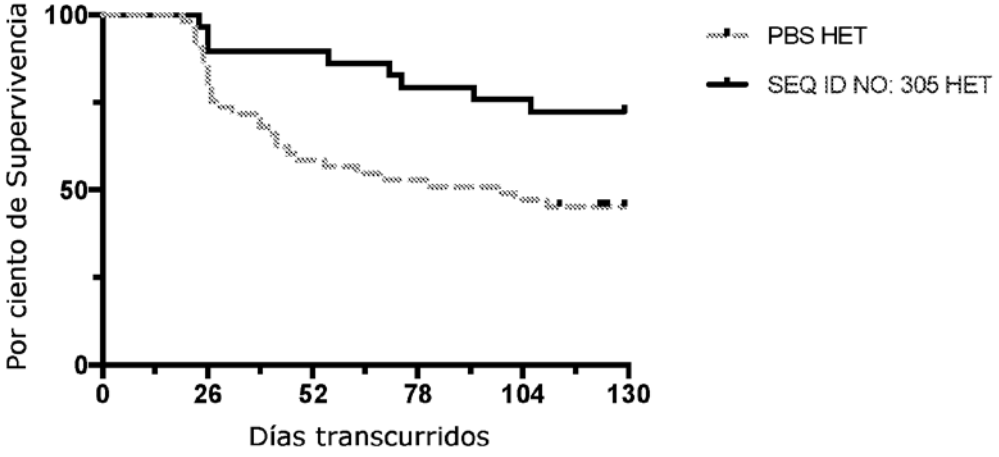


FIG. 21C

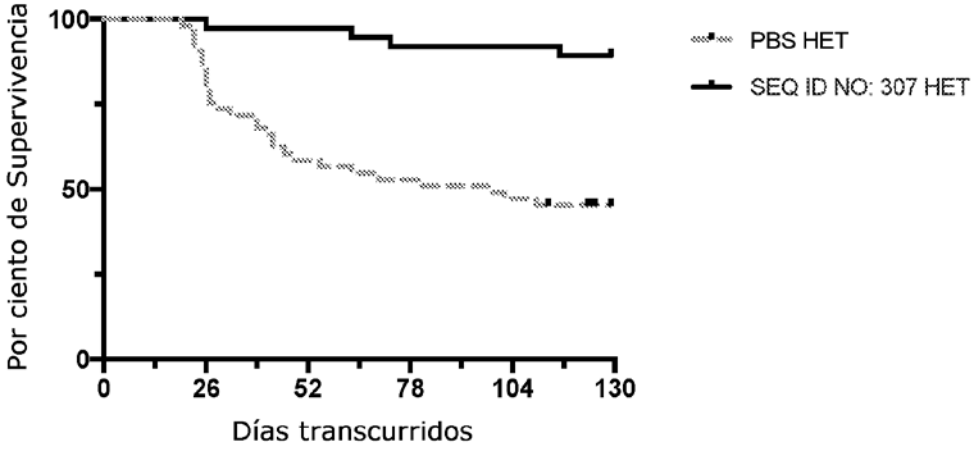


FIG. 21D

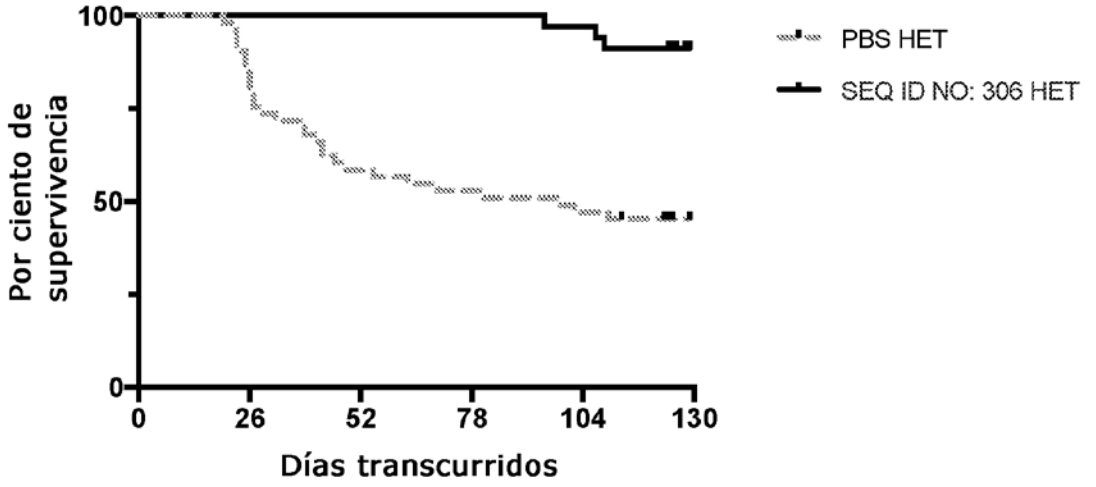


FIG. 21E

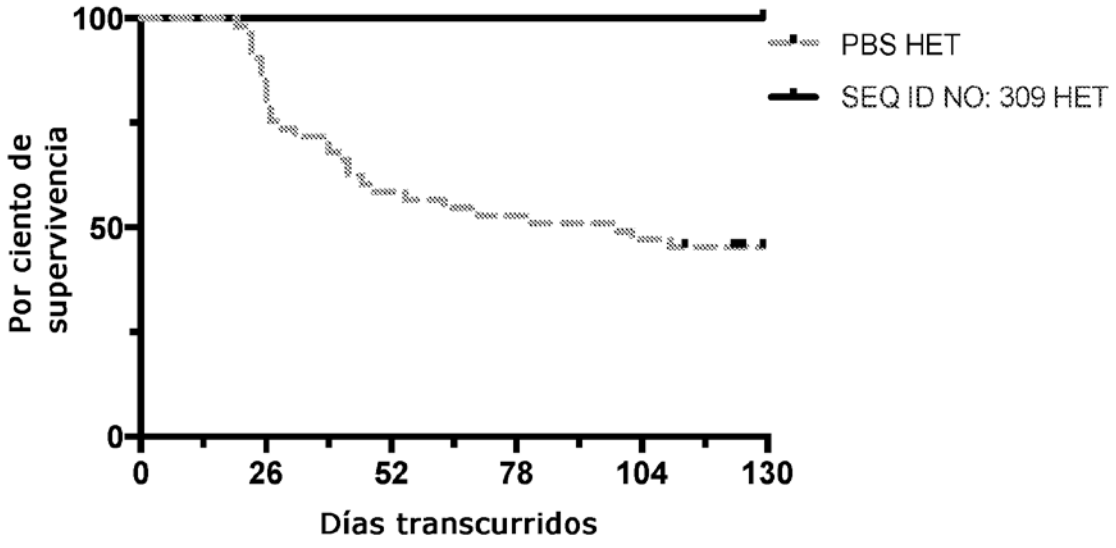


FIG. 22

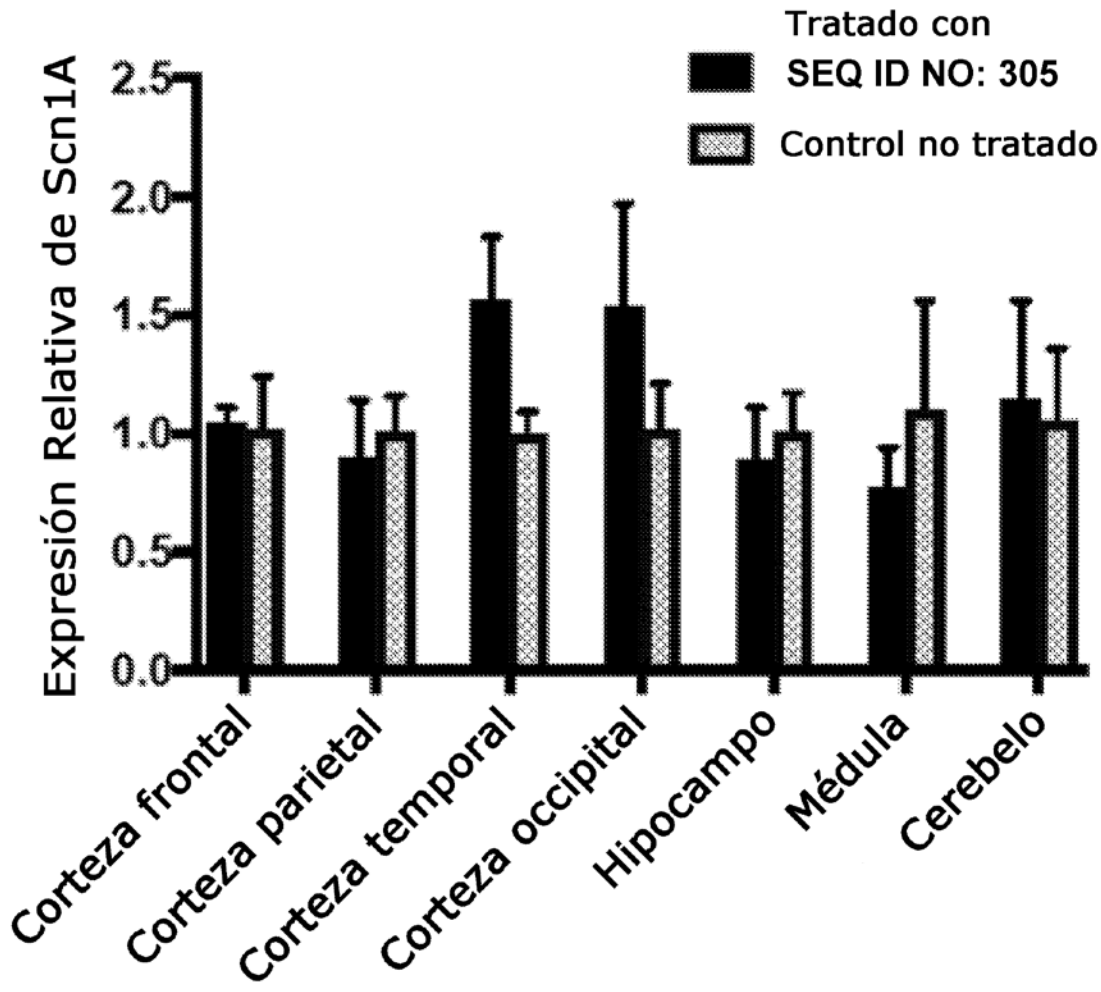

Tratado con
SEQ ID NO: 305
Control no tratado
Expresión Relativa de Scn1A
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Corteza frontal
Corteza parietal
Corteza temporal
Corteza occipital
Hipocampo
Médula
Cerebelo

FIG. 23

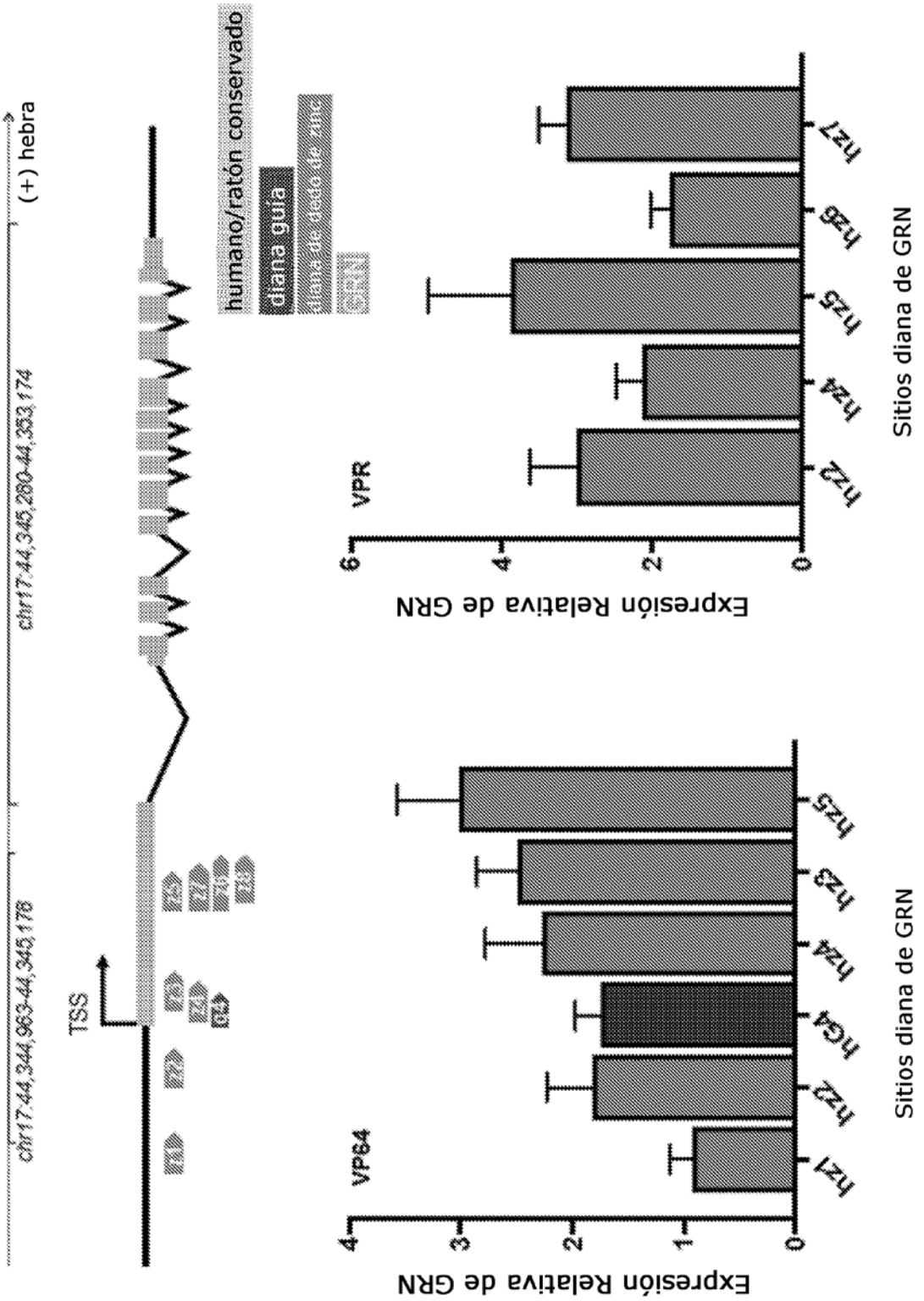

chr17:44,344,963-44,345,178
chr17:44,345,280-44,353,174
(+) hebra
TSS
humano/ratón conservado
diana guía
diana de dedo de zinc
GRN
VP64
Expresión Relativa de GRN
Sitios diana de GRN
VPR
Expresión Relativa de GRN
Sitios diana de GRN

FIG. 24A

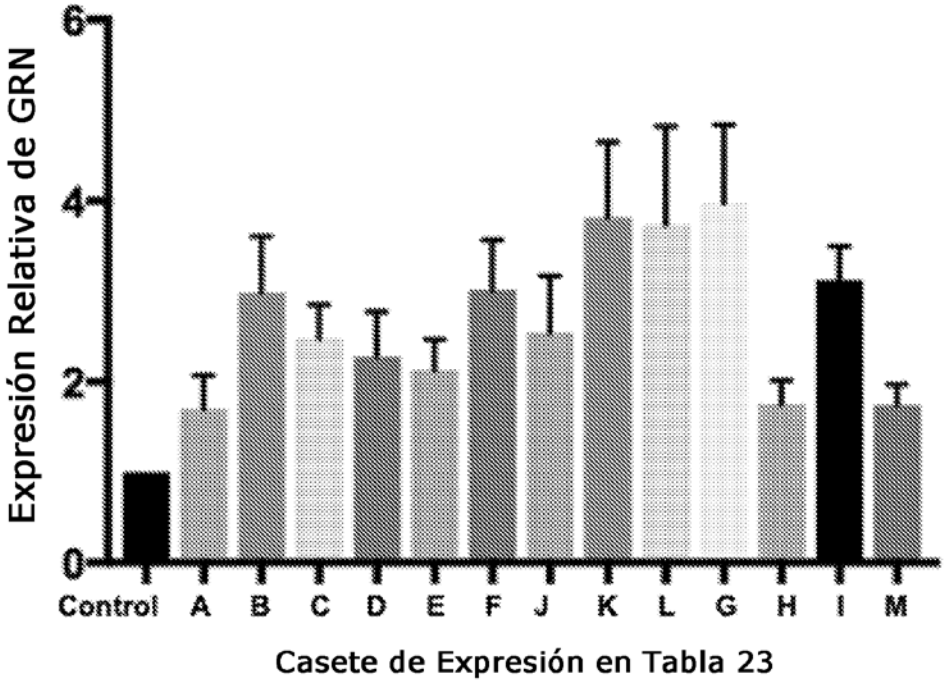
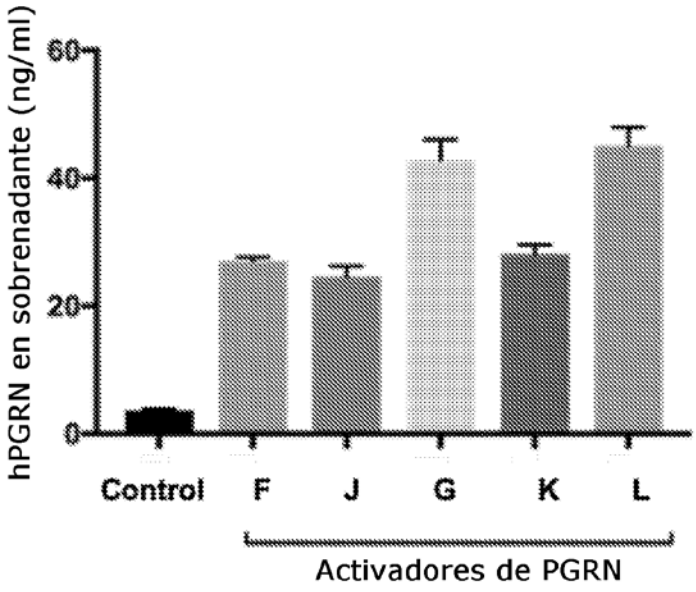


FIG. 24B



Medio recolectado 2 días después de transfección por ELISA

FIG. 25

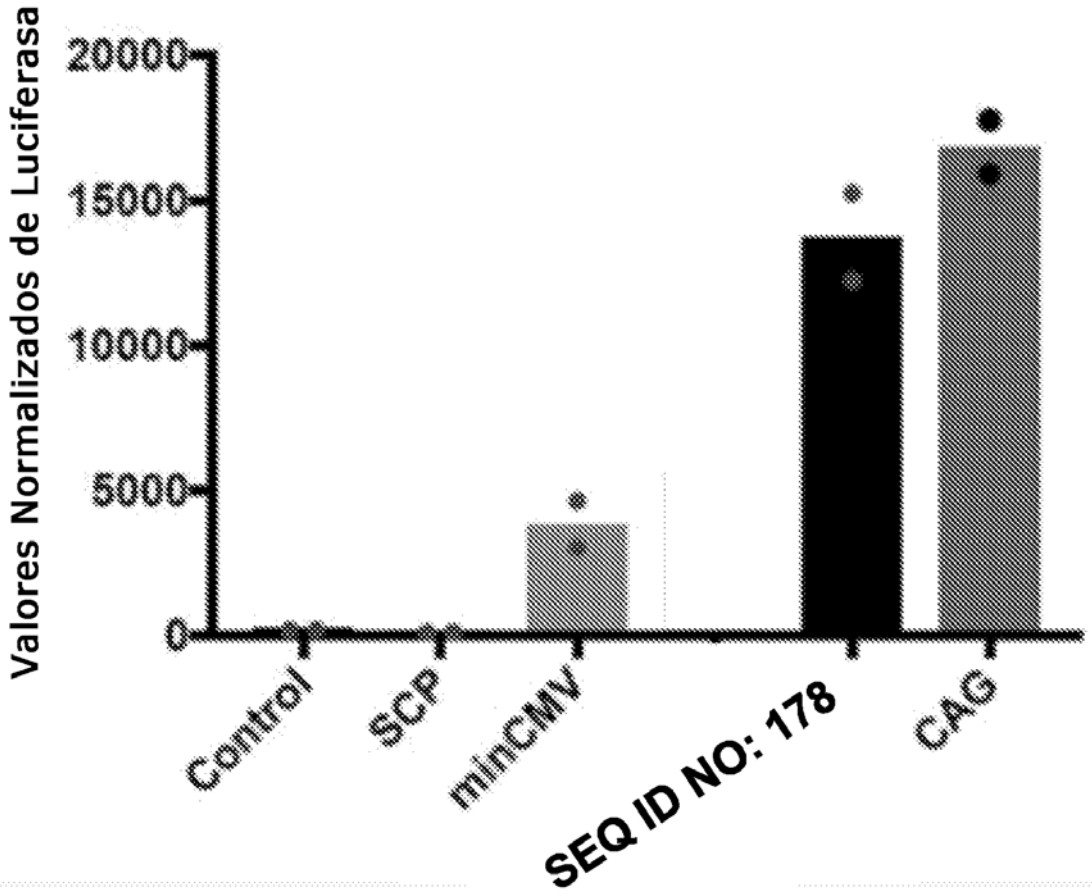

Valores Normalizados de Luciferasa
20000
15000
10000
5000
0
Control
SCP
minCMV
SEQ ID NO: 178
CAG

FIG. 26

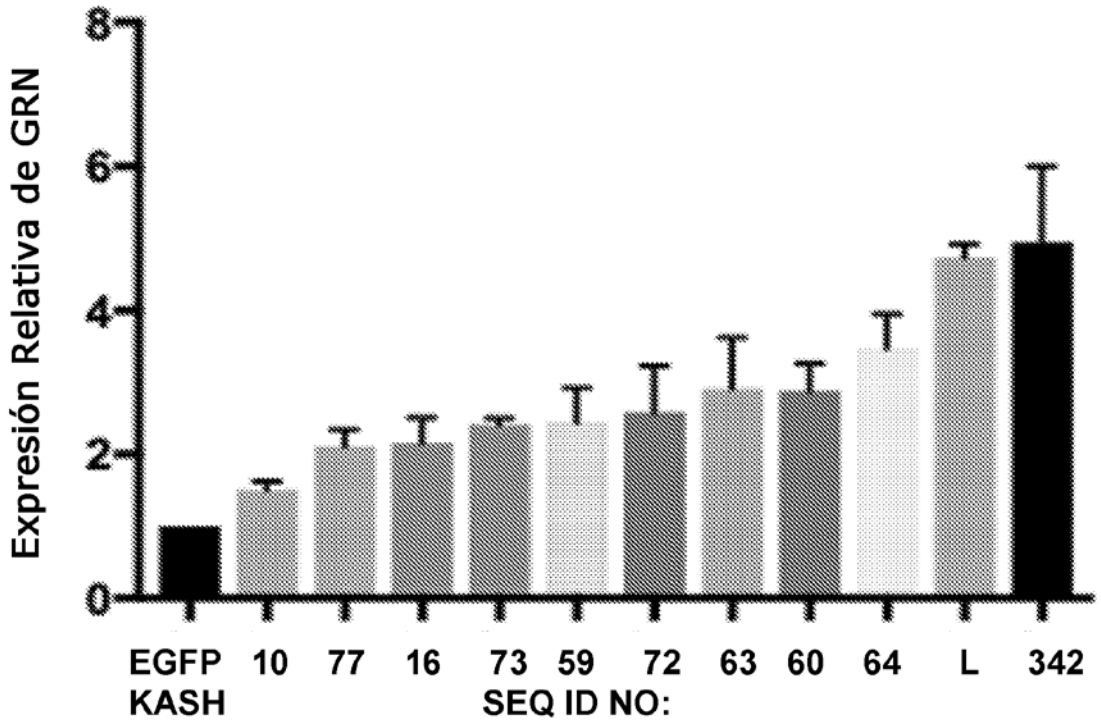

Expresión Relativa de GRN
0
2
4
6
8
EGFP KASH
10
77
16
73
59
72
63
60
64
L
342
SEQ ID NO:

FIG. 27

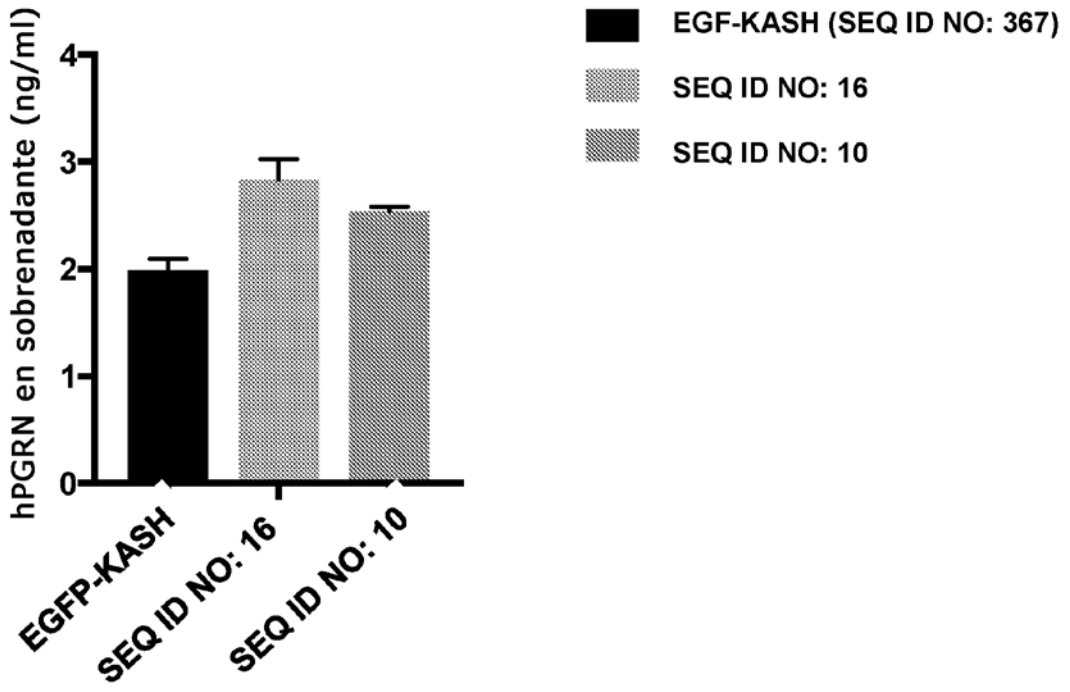

hPGRN en sobrenadante (ng/ml)
0
1
2
3
4
EGFP-KASH
SEQ ID NO: 16
SEQ ID NO: 10
EGF-KASH (SEQ ID NO: 367)
SEQ ID NO: 16
SEQ ID NO: 10

FIG. 28

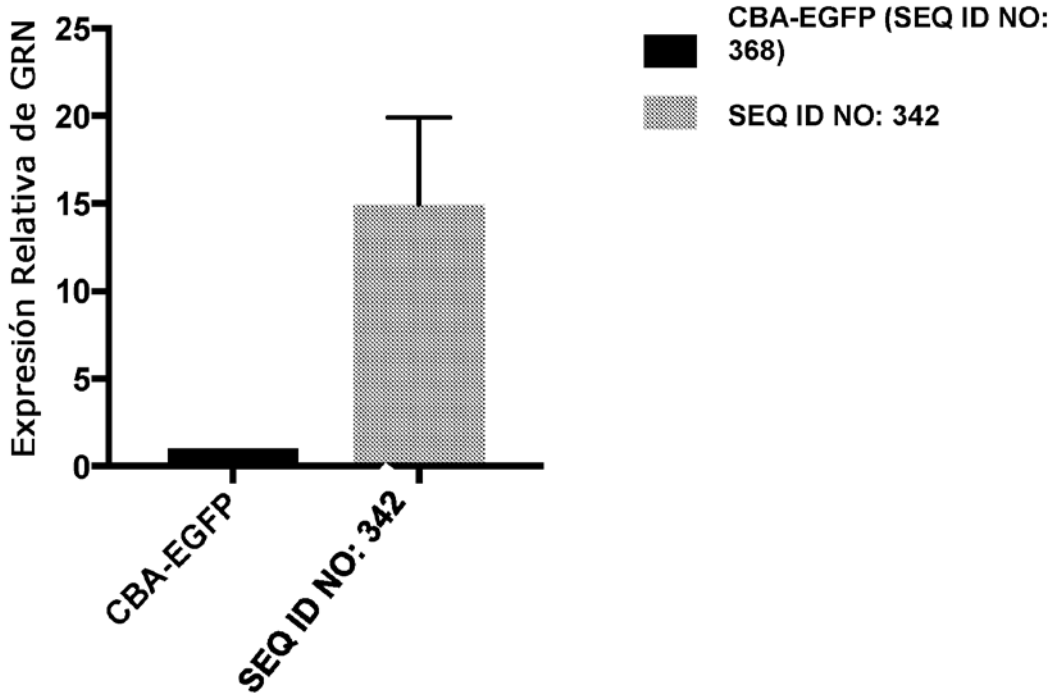

Expresión Relativa de GRN
0
5
10
15
20
25
CBA-EGFP
SEQ ID NO: 342
CBA-EGFP (SEQ ID NO: 368)
SEQ ID NO: 342

FIG. 29

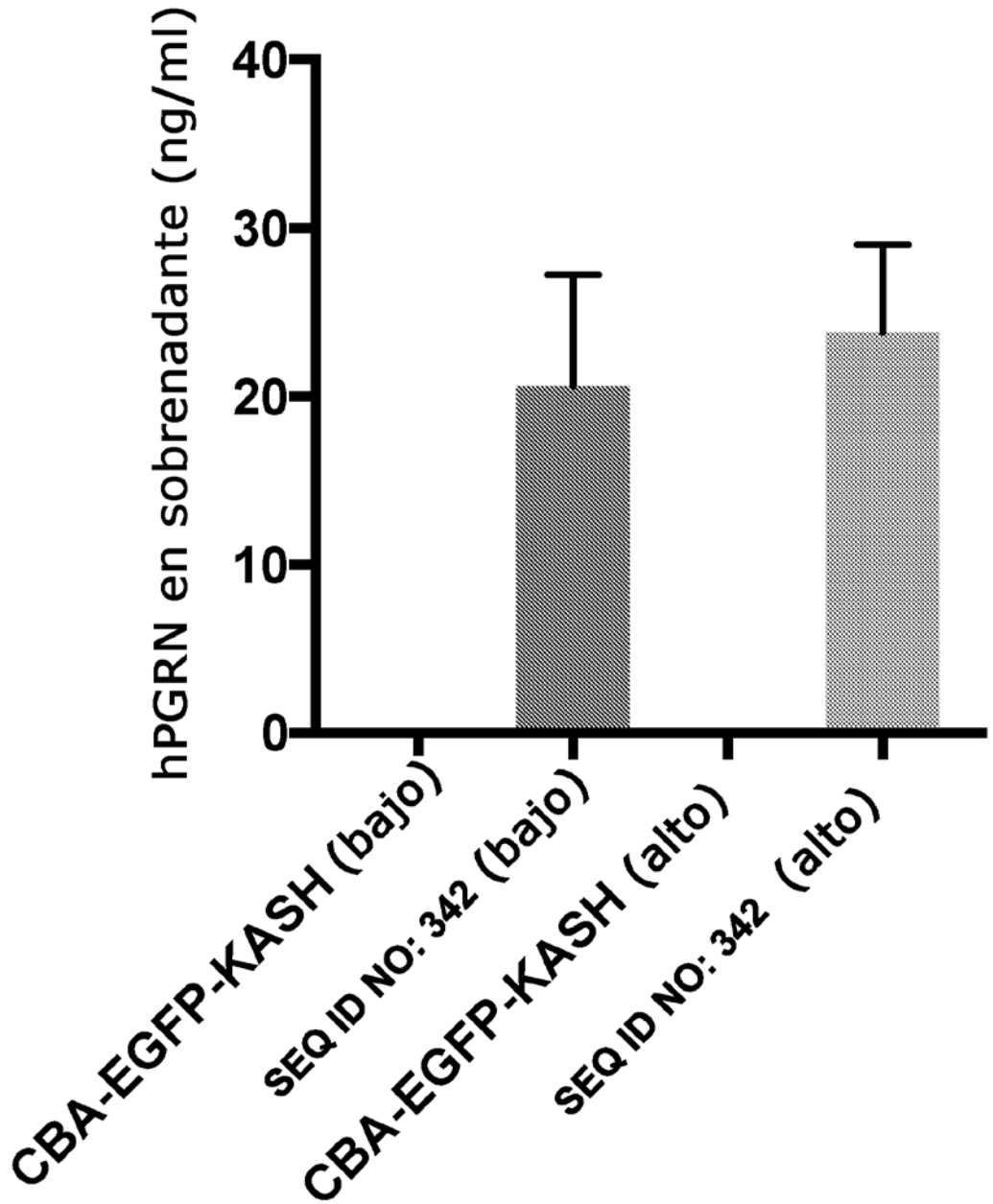

hPGRN en sobrenadante (ng/ml)
40
30
20
10
0
CBA-EGFP-KASH (bajo)
SEQ ID NO: 342 (bajo)
CBA-EGFP-KASH (alto)
SEQ ID NO: 342 (alto)

FIG. 30

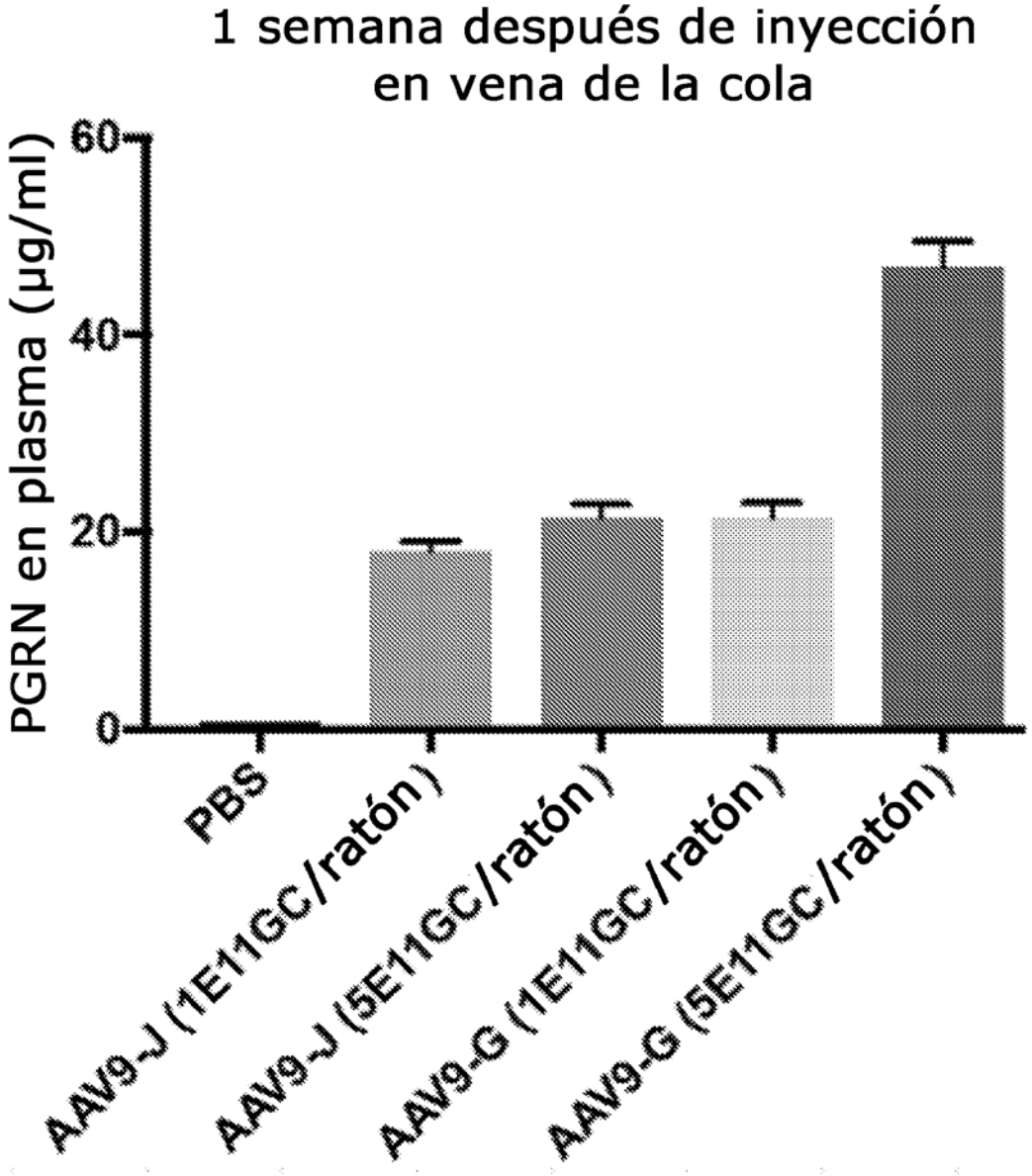

1 semana después de inyección en vena de la cola
PGRN en plasma (µg/ml)
60
40
20
0
PBS
AAV9-J (1E11GC/ratón)
AAV9-J (5E11GC/ratón)
AAV9-G (1E11GC/ratón)
AAV9-G (5E11GC/ratón)

FIG. 31A

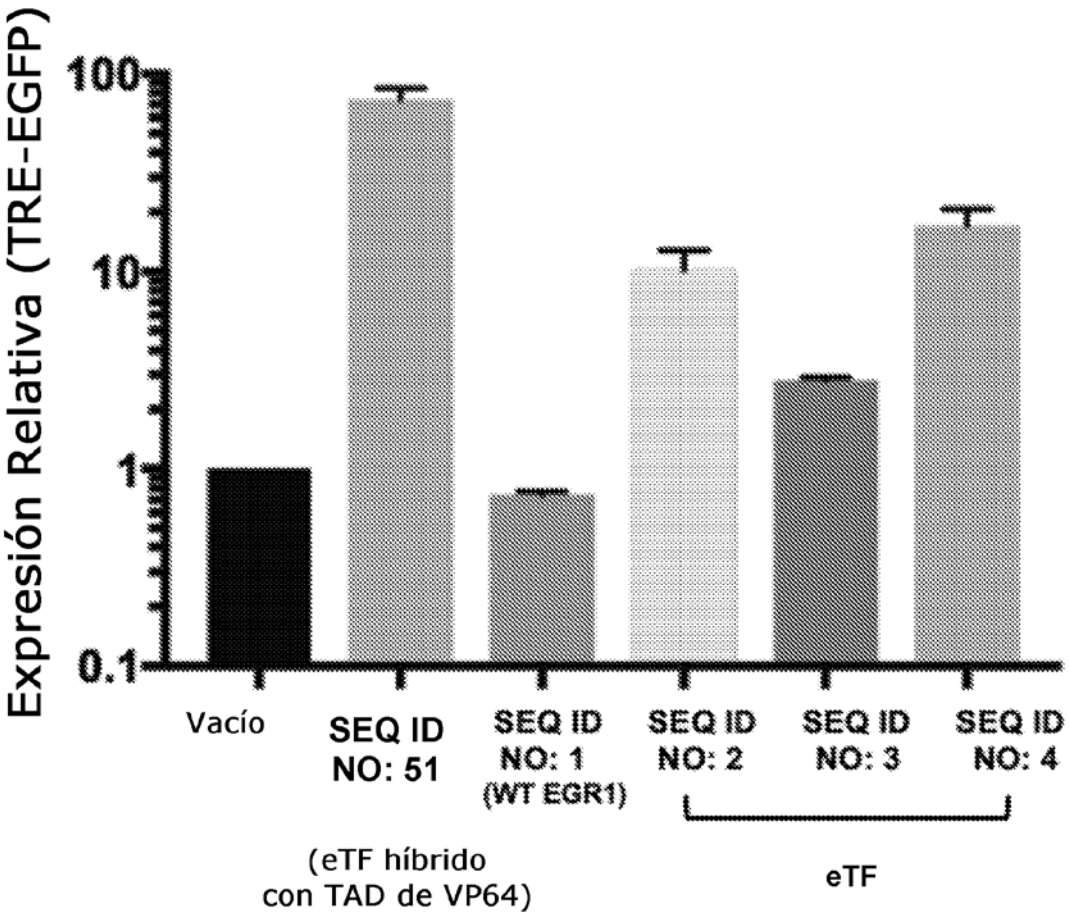

Expresión Relativa (TRE-EGFP)
100
10
1
0.1
Vacío
SEQ ID NO: 51
SEQ ID NO: 1 (WT EGR1)
SEQ ID NO: 2
SEQ ID NO: 3
SEQ ID NO: 4
(eTF híbrido con TAD de VP64)
eTF

FIG. 31B

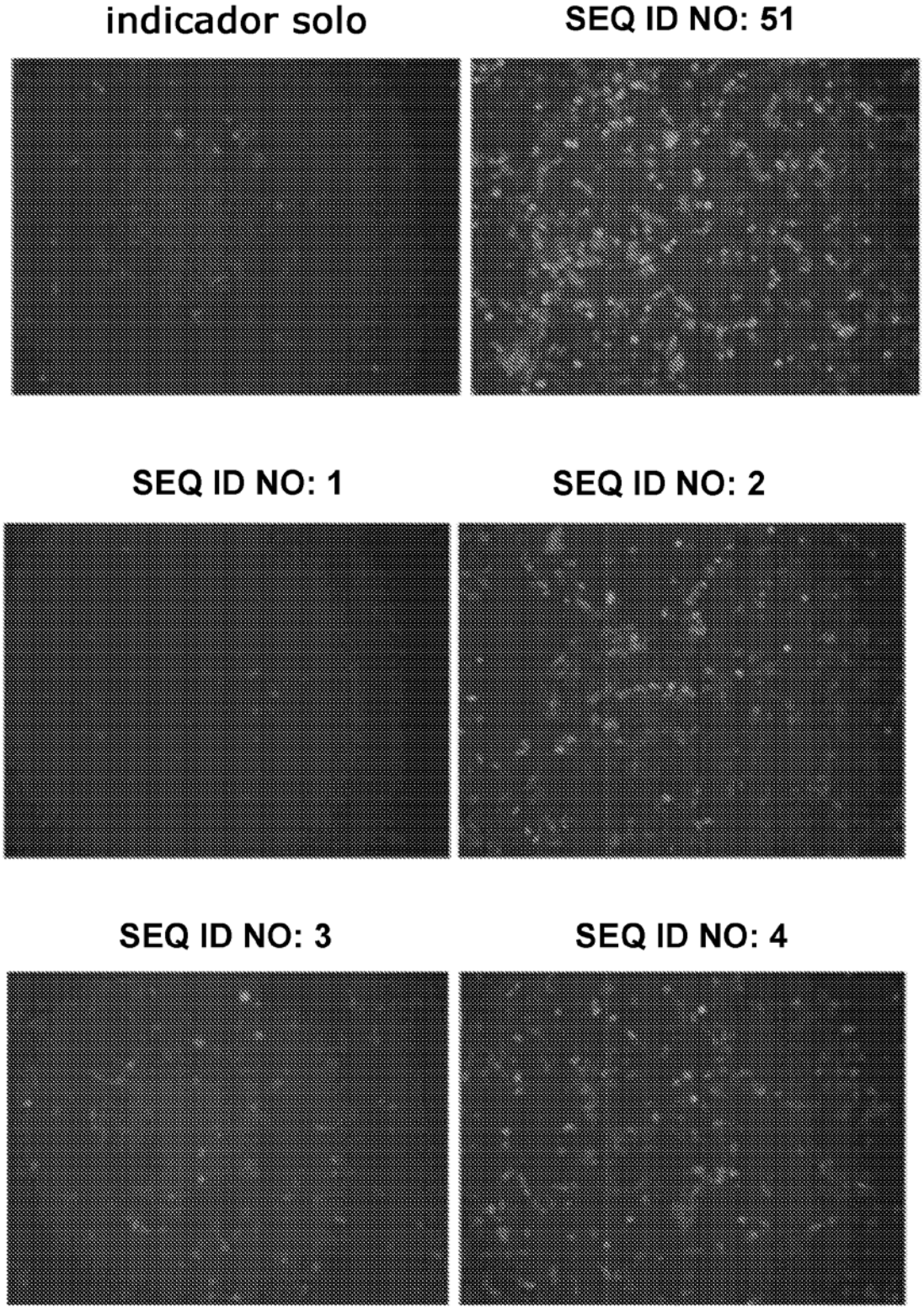

indicador solo
SEQ ID NO: 51
SEQ ID NO: 1
SEQ ID NO: 2
SEQ ID NO: 3
SEQ ID NO: 4

FIG. 32

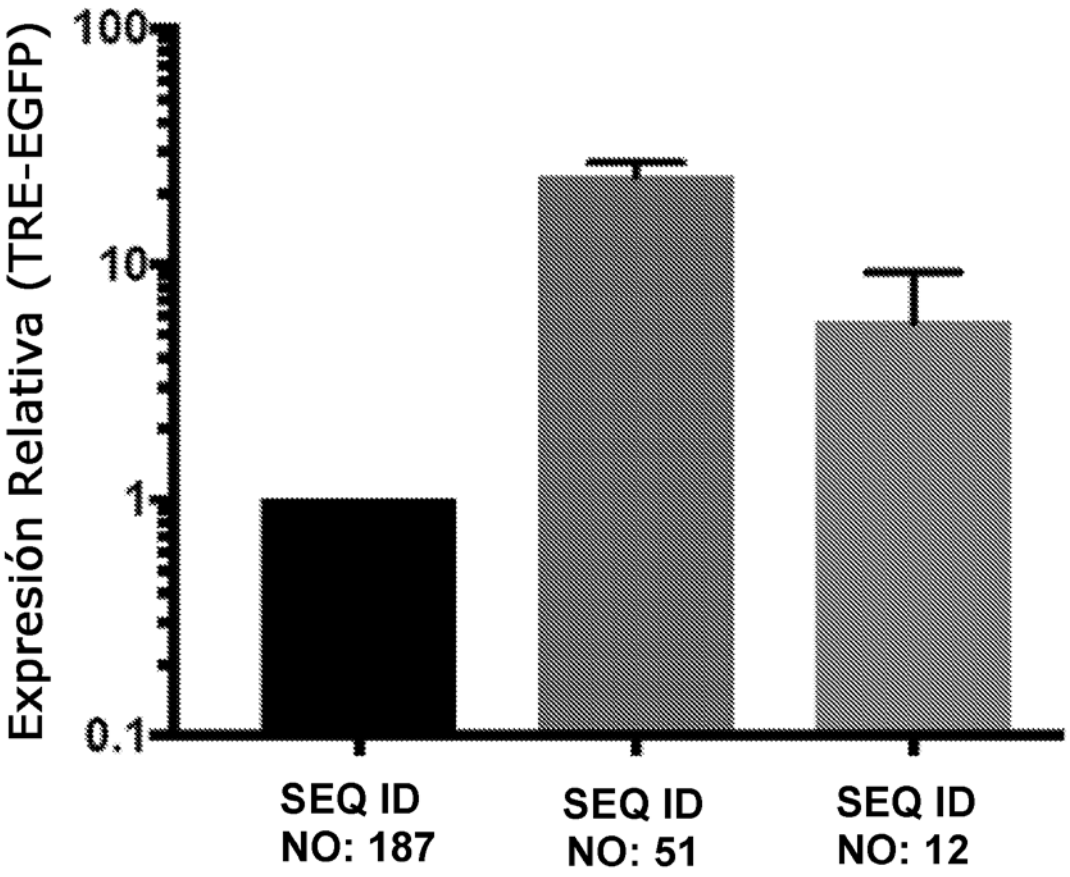

Expresión Relativa (TRE-EGFP)
100
10
1
0.1
SEQ ID NO: 187
SEQ ID NO: 51
SEQ ID NO: 12

FIG. 33A

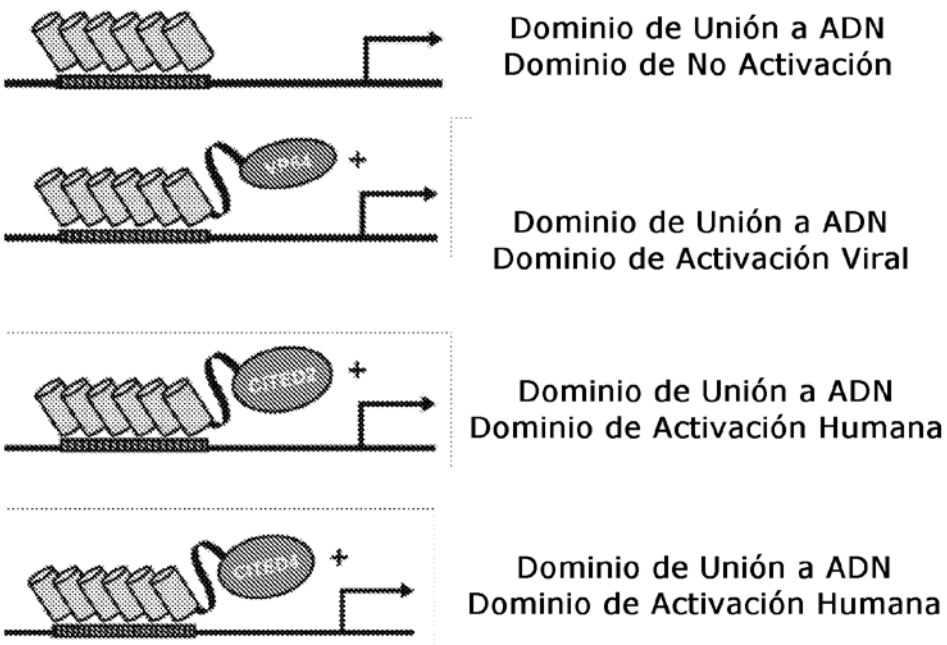


FIG. 33B

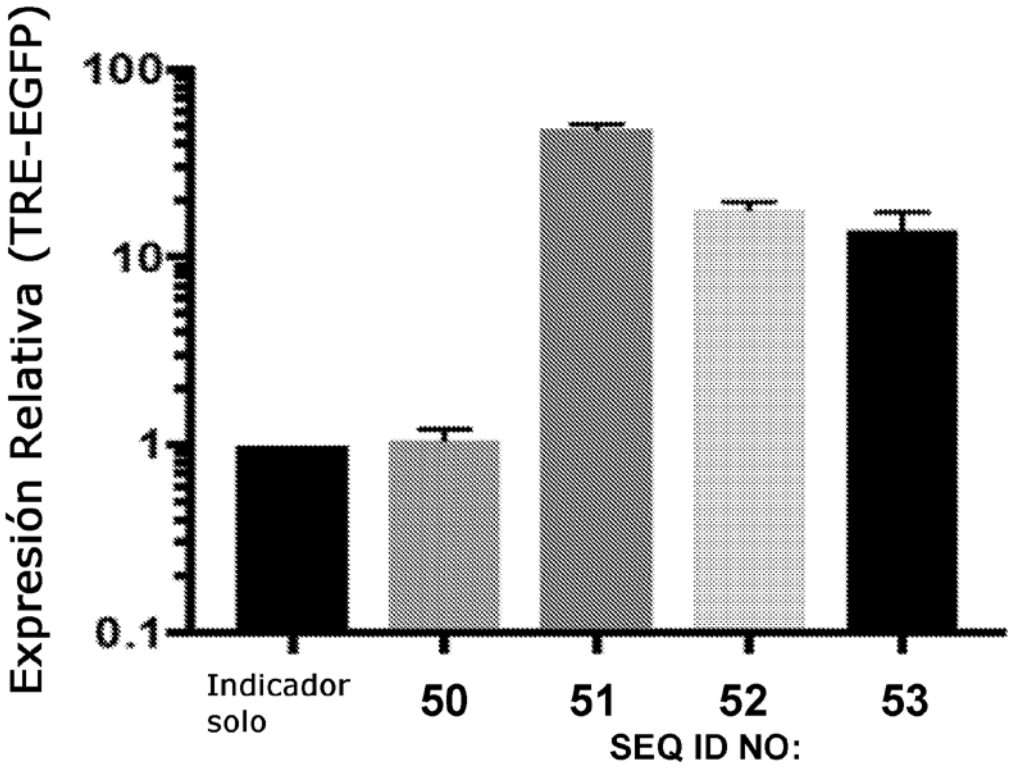


FIG. 33C

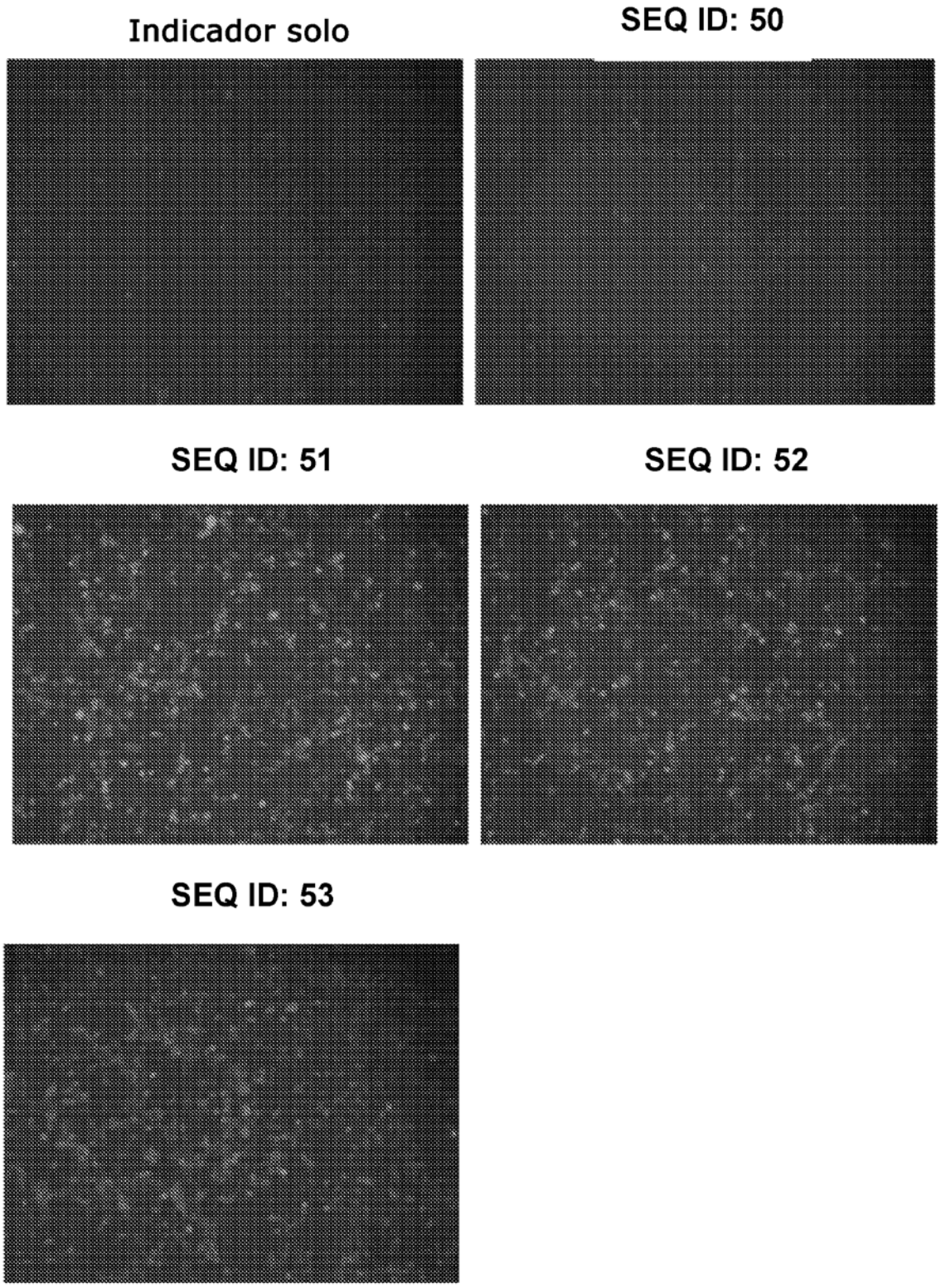


FIG. 34

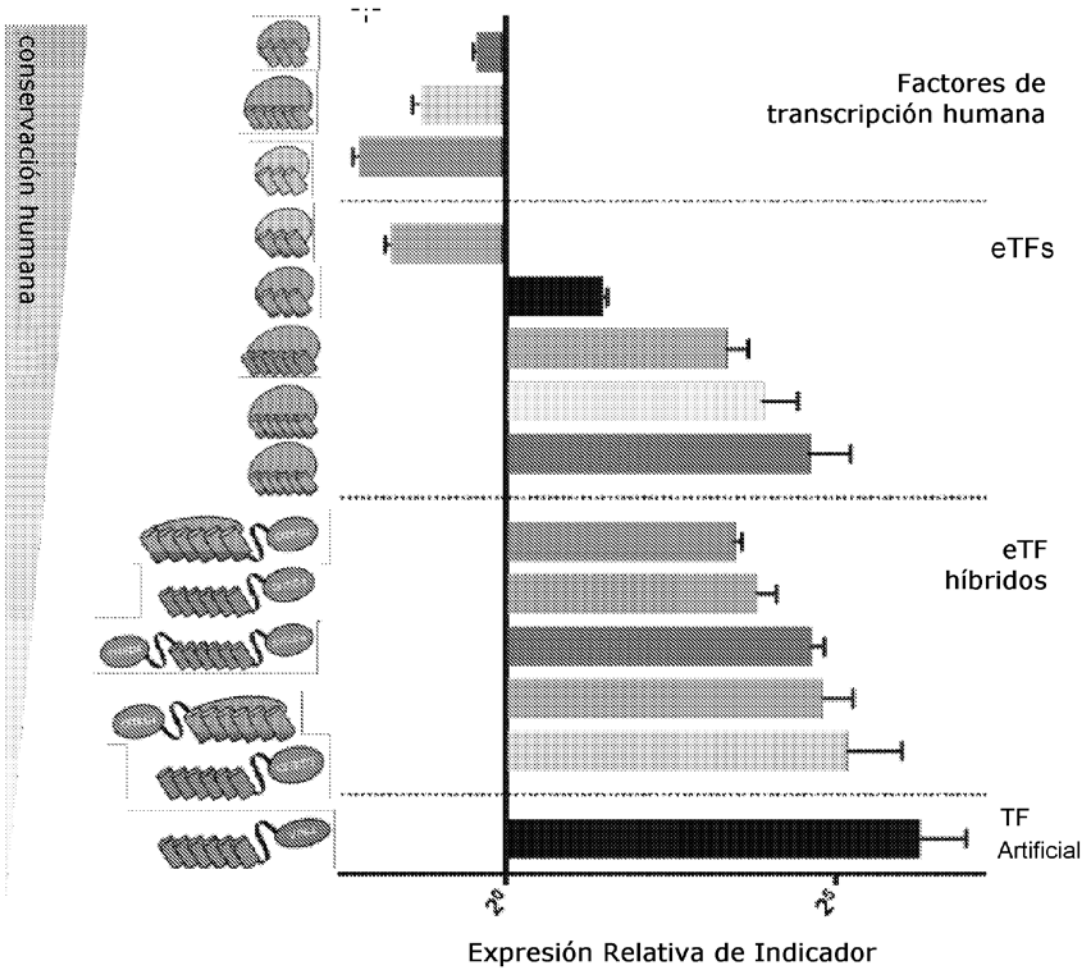

conservación humana
Factores de transcripción humana
eTFs
eTF híbridos
TF Artificial
20
25
Expresión Relativa de Indicador

FIG. 35A

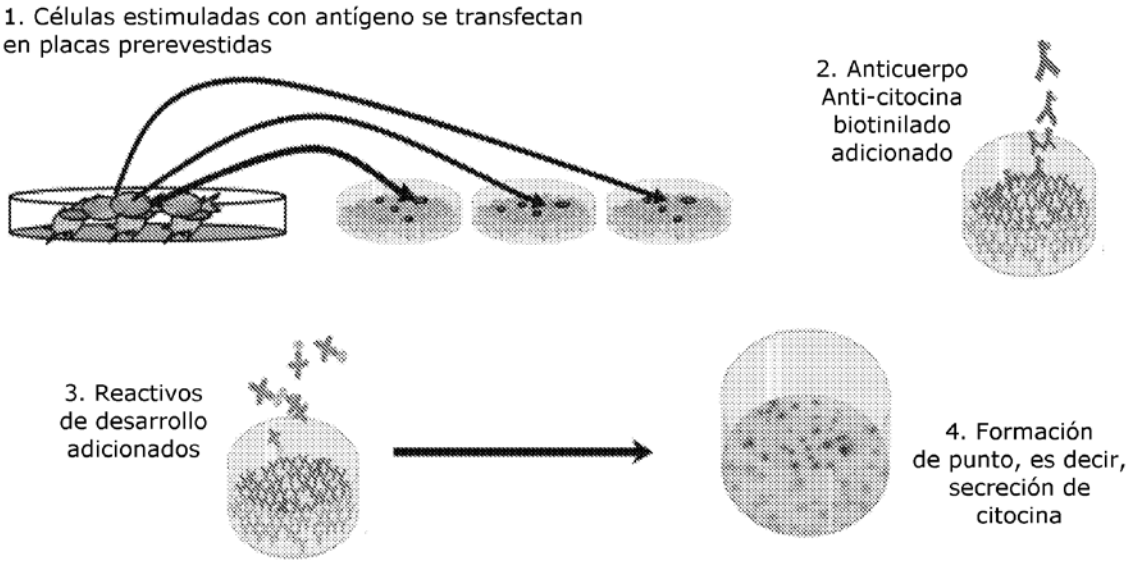


FIG. 35B

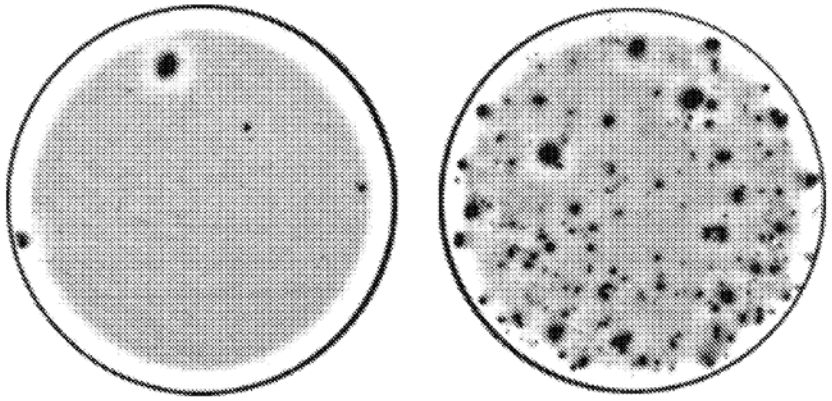


FIG. 36

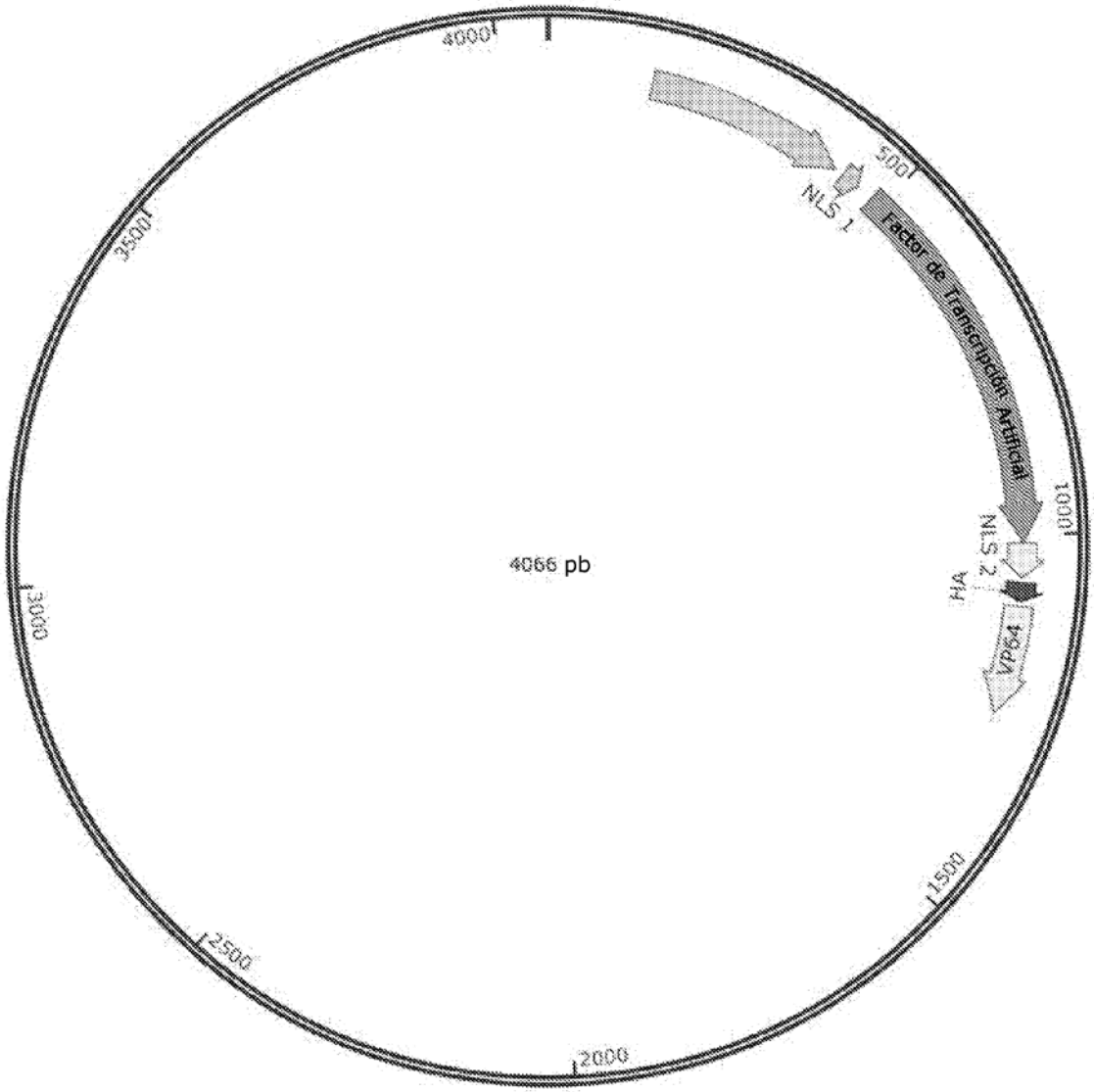

4000
500
NLS 1
Factor de Transcripción Artificial
1000
NLS 2
HA
VP64
1500
2000
2500
3000
3500
4066 pb

FIG. 37


Promotor
SV40 NLS
A ->> C
Ampr
Ampr promotor
7040 pb
Sp gRNA scaffold
guide RNA
promotor U6
señal poli(A)
HA
nucleoplasmin NLS
AAV2 ITR