

REIVINDICACIONES

1. Un método *in vitro* para modificar un transgén, el método comprende:
 - (a) seleccionar un primer gen que codifica un primer producto en una célula, en donde el primer producto es una proteína MeCP2;
 - (b) seleccionar un miARN no endógeno, cuya expresión es regulada positivamente por el primer producto en la célula; y
 - (c) modificar un transgén que expresa un transcripto que tiene una región de codificación que codifica el primer producto y una región no codificada 3' que comprende un sitio de unión para el miARN no endógeno.
2. El método *in vitro* para modificar un transgén de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el paso (b) del método además comprende:
 - (b1) seleccionar un segundo gen que codifica un segundo producto en la célula;
 - (b2) determinar que la expresión del segundo producto es regulada positivamente por el primer producto en la célula;
 - (b3) seleccionar un miARN no-endógeno; y
 - (b4) determinar que la expresión del miARN es regulada positivamente por el segundo producto en la célula.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en donde la proteína MeCP2 es de isoforma e1 de MeCP2 o isoforma e2 de MeCP2.
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el segundo producto es una proteína, o ácido nucleico.
5. El método de la reivindicación 4 en donde el ácido nucleico es un miARN.
6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el miARN es miR-132 (SEQ ID: 6).
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el método además comprende modificar la región no codificada 3' del transcripto para comprender uno a tres sitios de unión para un miARN de desorientación.



8. El método de la reivindicación 7, en donde el miARN de desorientación inhibe la expresión del transgén de células de hígado, corazón, pulmón, músculo, páncreas, o que presentan antígeno.
9. El método de la reivindicación 7 u 8, en donde el miARN de desorientación es miR-122 (SEQ ID: 4), miR-1 (SEQ ID: 5), o miR-122 (SEQ ID: 4) y miR-1 (SEQ ID: 5).
10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el paso de modificar el transgén comprende insertar el transgén en un vector.
11. El método de la reivindicación 10, en donde el vector es un vector de clonación, vector de expresión, plásmido, o vector viral.
12. Un vector AAV recombinante (rAAV) para expresión autorregulada de una proteína, el vector rAAV comprende un ácido nucleico modificado para expresar en una célula de un tejido objetivo un transcripto que codifica la proteína, en donde el transcripto comprende un primer sitio de unión de miARN específico para un primer miARN no endógeno que está regulado positivamente por la expresión de la proteína MeCP2 en la célula.
13. Un ácido nucleico recombinante que codifica un transcripto que tiene una región de codificación que codifica proteína MeCP2 humana o un fragmento funcional de la misma y una región no codificada 3' que comprende un sitio de unión a miARN no endógeno, en donde el sitio de unión a miARN comprende:
 - (a) un sitio de unión a miARN específico para un miARN que regula negativamente la expresión del transcripto; y
 - (b) un sitio de unión a miARN específico para un miARN que inhibe la expresión del transcripto en una célula de un tejido no objetivo.en donde el transcripto está flanqueado por repeticiones terminales invertidas (ITR) de virus adenoasociado (AAV).
14. El ácido nucleico recombinante de la reivindicación 13, en donde la región de codificación codifica isoforma e1 de MeCP2.
15. El ácido nucleico recombinante de la reivindicación 13 o 14, en donde el MeCP2 humano comprende la secuencia definida en la SEQ ID NO: 1.



16. El ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, en donde el sitio de unión específico a miARN para un miARN que regula negativamente la expresión del transcripto comprende un sitio de unión a miR-132 (SEQ ID: 6), en donde el sitio de unión a miARN es dos o tres sitios de unión a miR-132 (SEQ ID: 6).
17. El ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, en donde el sitio de unión a miARN específico para un miARN inhibe la expresión del transcripto en un tejido no objetivo comprende un sitio de unión a miR-1 (SEQ ID: 5), sitio de unión a miR-122 (SEQ ID: 4), o sitio de unión a miR-1 (SEQ ID: 5) y miR-122 (SEQ ID: 4).
18. El ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17, en donde el sitio de unión a miARN se ubica entre el último codón de la región de codificación y la cola poli A del transcripto.
19. El ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, que además comprende un promotor.
20. El ácido nucleico recombinante de la reivindicación 19, en donde el promotor es un promotor de MeCP2 de ratón.
21. El ácido nucleico recombinante de la reivindicación 20, en donde el promotor de MeCP2 de ratón comprende la secuencia definida en la SEQ ID NO: 3.
22. El ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 21, en donde el ácido nucleico recombinante se ubica en un plásmido.
23. El ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 22, en donde los ITR son ITR de AAV2.
24. Un vector viral que comprende el ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 23, en donde el vector viral es un vector de virus adenoasociado (AAV), un vector de adenovirus, un vector lentiviral, un vector de herpesvirus, o un vector de baculovirus.
25. Un virus adenoasociado recombinante (rAAV) que comprende:



un cápside que alberga el ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 23.

26. El rAAV de la reivindicación 25, en donde el ácido nucleico comprende un ITR seleccionado de un ITR de AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, o AAV6.

27. El rAAV de la reivindicación 25 o 26, en donde la cápside comprende una proteína de cápside que facilita el paso del rAAV a lo largo de la barrera hematoencefálica.

28. El rAAV de la reivindicación 27, en donde la proteína de cápside tiene un serotipo seleccionado del grupo que consiste de AAV-PHP.B, AAV1, AAV2, AAV2i8, AAV2.5, AAV5, AAV6, AAV8, AAVrh8, AAV9, AAVrh10, AAV-B1, AAV9.45A-Cadena (por ejemplo, AAV9.45-AS), AAV9.45Angiopep, AAV9.47-Angiopep, AAV9.47-AS, AAV-CAM130, y AAV9HR.

29. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 25 a 28, en donde la proteína de cápside comprende o consiste de una secuencia definida en la SEQ ID NO: 14 o 15.

30. Una composición que comprende el ácido nucleico recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 23, el vector viral de la reivindicación 24, o el rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 25 a 29, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

31. La composición de la reivindicación 30, en donde la composición es formulada para inyección.

32. La composición de la reivindicación 31, en donde la composición es formulada para inyección sistémica (por ejemplo, inyección intravenosa) o inyección intratecal.