

REIVINDICACIONES

Se reivindica lo siguiente:

1. Un ácido nucleico aislado que comprende un transgén configurado para expresar un dominio de unión a ADN fusionado con un dominio regulador de la transcripción, donde el dominio de unión a ADN se une a un gen diana o una región reguladora de un gen diana y donde el gen diana codifica un canal de sodio dependiente de voltaje, y en donde el dominio de unión a ADN se une a una secuencia de ácido nucleico como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 5-7.
2. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 1, donde el transgén está flanqueado por repeticiones terminales invertidas (ITR) derivadas de virus adenoasociados (AAV).
3. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 1 o 2, donde el dominio de unión a ADN codifica una proteína de dedos de cinc (ZFP), un efector de tipo activador de la transcripción (TALE), una proteína dCas, y/o un homeodominio.
4. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 1 o 2, en donde el dominio de unión a ADN es una proteína dedo de zinc que tiene 90%, 95%, 98% o 100% de identidad de secuencia con cualquiera de los SEQ ID NOS: 57, 59 y 61.
5. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico con una secuencia indicada en cualquiera de las SEQ ID NO: 11-16, 23-28 o 35-40.
6. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 5, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 11, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 12, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 13, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 14, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 15 y/o una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 16.
7. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 5, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 23, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 24, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 25, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 26, una

hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 27 y/o una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 28.

8. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 5, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 35, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 36, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 37, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 38, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 39 y/o una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 40.
9. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de las SEQ ID NO: 17-22, 29-34 o 41-46.
10. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 9, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 17, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 18, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 19, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 20, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 21 y/o una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 22.
11. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 9, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 29, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 30, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 31, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 32, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 33 y/o una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 34.
12. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 9, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 41, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 42, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 43, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 44, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 45 y/o una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 46.
13. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el dominio de unión a ADN es una proteína dCas, y donde el ácido nucleico aislado comprende además un ácido nucleico guía.
14. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 13, en donde la proteína dCas es una proteína

dCas9.

15. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 13 o 14, donde el ácido nucleico guía comprende una secuencia separadora que se dirige a *SCN1A*.
16. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 13-15, en donde el ácido nucleico guía comprende una secuencia separadora con una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 85, 86, 89, 90, 93 o 94.
17. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 13-16, donde el ácido nucleico guía comprende una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 83-94.
18. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, donde el dominio regulador de la transcripción comprende un transactivador VPR, Rta, p65 o Hsf1.
19. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, donde el dominio regulador de la transcripción es codificado por la secuencia de ácido nucleico indicada en la SEQ ID NO: 47.
20. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, donde el dominio regulador de la transcripción comprende la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 48.
21. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 2-20, donde el ITR comprende una ITR de AAV2.
22. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 2-21, donde la ITR es una Δ TR y/o una mTR.
23. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-22, donde el transgén está enlazado de manera operativa a un promotor.
24. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 23, donde el promotor es un promotor con especificidad de tejido.
25. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 24, en donde el promotor es un promotor de SST, NPY, de glutaminasa activada por fosfato (PAG), transportador de glutamato vesicular-1 (VGLUT1), descarboxilasa del ácido glutámico 65 y 57 (GAD65, GAD67), Sinapsina I, α -CamKII, Dock10, Prox1, Parvalbúmina (PV), Somatostatina (SST), Colecistocinina (CCK), Calretinina (CR) o Neuropéptido Y (NPY).
26. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-25, donde el dominio de unión a ADN está fusionado con el dominio regulador de la transcripción mediante un dominio enlazador.
27. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 26, donde el dominio enlazador es:
 - (i) un enlazador flexible, o
 - (ii) un enlazador escindible.
28. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 27, en donde el enlazador flexible se compone de glicinas.

29. El ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-28, donde el transgén codifica 1 dominio de unión a ADN, 2 dominios de unión a ADN, 3 dominios de unión a ADN, 4 dominios de unión a ADN, 5 dominios de unión a ADN, o 6 dominios de unión a ADN.
30. Un AAV recombinante (rAAV) que comprende:
- (i) un ácido nucleico que comprende un transgén que codifica un dominio de unión a ADN fusionado con un dominio regulador de la transcripción, donde el dominio de unión a ADN se une a un gen diana o una región reguladora de un gen diana, donde el gen diana codifica un canal de sodio dependiente de voltaje, y donde el dominio de unión a ADN se une a una secuencia de ácido nucleico establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 5-7; y
 - (ii) una proteína de cápside.
31. El rAAV de la reivindicación 30, donde el transgén está flanqueado por repeticiones terminales invertidas (ITR) derivadas de virus adenoasociados (AAV).
32. El rAAV de la reivindicación 30 o 31, donde el dominio de unión a ADN codifica una proteína de dedos de cinc (ZFP), un efector de tipo activador de la transcripción (TALE), una proteína dCas y/o un homeodominio.
33. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-32, en donde el dominio de unión al ADN es una proteína de dedo de zinc que tiene 90%, 95%, 98% o 100% de identidad de secuencia con cualquiera de los SEQ ID NOs: 57, 59 y 61.
34. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-33, donde el dominio de unión a ADN son proteínas de dedos de cinc que comprenden una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico con una secuencia indicada en cualquiera de las SEQ ID NO: 11-16, 23-28 o 35-40.
35. El rAAV de la reivindicación 34, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 11, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 12, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 13, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 14, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 15 y/o una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 16.
36. El rAAV de la reivindicación 34, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 23, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 24, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 25, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 26, una hélice de reconocimiento codificada

por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 27 y/o una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 28.

37. El rAAV de la reivindicación 34, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 35, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 36, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 37, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 38, una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 39 y/o una hélice de reconocimiento codificada por un ácido nucleico que comprende la SEQ ID NO: 40.
38. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-37, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende la secuencia indicada en cualquiera de las SEQ ID NO: 17-22, 29-34 o 41-46.
39. El rAAV de la reivindicación 38, donde el dominio de unión a ADN es una proteínas de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 17, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 18, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 19, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 20, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 21 y/o una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 22.
40. El rAAV de la reivindicación 38, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 29, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 30, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 31, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 32, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 33 y/o una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 34.
41. El rAAV de la reivindicación 38, donde el dominio de unión a ADN es una proteína de dedos de cinc que comprende una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 41, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 42, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 43, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 44, una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 45 y/o una hélice de reconocimiento que comprende la SEQ ID NO: 46.
42. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-32, donde el dominio de unión a ADN es una proteína dCas, y donde el rAAV comprende además un ácido nucleico guía.
43. El rAAV de la reivindicación 42, en donde la proteína dCas es una proteína dCas9.
44. El rAAV de la reivindicación 42 o 43, donde el ácido nucleico guía comprende una secuencia separadora que se dirige a *SCN1A*.
45. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 42-44, donde el ácido nucleico guía comprende

una secuencia separadora con una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 85, 86, 89, 90, 93 o 94.

46. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 42-45, donde el ácido nucleico guía comprende una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 83-94.
47. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-46, donde el dominio regulador de la transcripción comprende un transactivador VPR, Rta, p65, o Hsf1.
48. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-47, donde el transgén que codifica el dominio regulador de la transcripción comprende la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 47.
49. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-47, donde el dominio regulador de la transcripción comprende la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 48.
50. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-49, donde el dominio de unión a ADN está fusionado con el dominio regulador de la transcripción mediante un dominio enlazador.
51. El rAAV de la reivindicación 50, donde el dominio enlazador es:
 - (i) un enlazador flexible, o
 - (ii) un enlazador escindible.
52. El rAAV de la reivindicación 51, en donde el enlazador flexible se compone de glicinas.
53. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-52, donde el transgén codifica 1 dominio de unión a ADN, 2 dominios de unión a ADN, 3 dominios de unión a ADN, 4 dominios de unión a ADN, 5 dominios de unión a ADN, o 6 dominios de unión a ADN..
54. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-53, donde el serotipo de cápside de AAV se selecciona dentro del grupo que consiste en AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAV9, AAV10, AAVrh10 y AAV.PHPB.
55. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-54, donde el serotipo de cápside de AAV es AAV9.
56. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-54, donde el serotipo de cápside de AAV es AAV.PHPB.
57. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 31-56, donde la ITR es una ITR de AAV2.
58. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 31 a 57, donde la ITR es una Δ TR y/o una mTR.
59. El rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-58, donde el transgén está enlazado de manera operativa a un promotor.
60. El rAAV de la reivindicación 59, donde el promotor es un promotor con especificidad de tejido.
61. El rAAV de la reivindicación 59 o 60, donde el promotor con especificidad de tejido es un promotor de SST, NPY, glutaminasa activada por fosfato (PAG), transportador de glutamato vesicular-1 (VGLUT1), descarboxilasa del ácido glutámico 65 y 57 (GAD65, GAD67), Sinapsina I, α -CamKII, Dock10, Prox1, Parvalbúmina (PV), Somatostatina (SST),

Colecistocinina (CCK), Calretinina (CR) o Neuropeptido Y (NPY).

62. Un método de aumento de la expresión de un gen diana, el método comprende administrar a una célula o a un sujeto que comprende el gen diana el ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29 o el rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-61.
63. El método de la reivindicación 62, donde la célula o el sujeto presenta una haploinsuficiencia del gen diana.
64. El método de la reivindicación 62 o 63, donde el gen diana es *SCN1A*.
65. El método de cualquiera de las reivindicaciones 62-64, donde la célula es una neurona.
66. El método de cualquiera de las reivindicaciones 62-65, donde la administración del ácido nucleico aislado o el rAAV provoca que la expresión del gen diana aumente 2 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces, o más en relación con la expresión del transgén en el sujeto antes de la administración.
67. Uso del ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29 o del rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-61 en un método de tratamiento del síndrome de Dravet en un sujeto, en donde el método comprende administrar a un sujeto que expresa el gen diana el ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29 o el rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-61.
68. El uso de la reivindicación 67, donde la expresión del gen diana en el sujeto disminuye en comparación con la de un sujeto normal.
69. El uso de la reivindicación 67 o la reivindicación 68, donde el sujeto tiene, o se presume que tiene, una haploinsuficiencia en la expresión del gen diana con respecto a un sujeto normal.
70. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 67-69, donde el sujeto tiene, o se presume que tiene, una afección provocada por una expresión haploinsuficiente del gen diana.
71. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 67-70, donde el gen diana es *SCN1A*.
72. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 67-71, donde el ácido nucleico aislado el rAAV se administra mediante inyección intravenosa, inyección intramuscular, inhalación, inyección subcutánea y/o inyección intracraneal.
73. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 67-72, donde la administración del ácido nucleico aislado o el rAAV provoca que la expresión del gen diana aumente 2 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces, o más en relación con la expresión del transgén en el sujeto antes de la administración.
74. Una composición que comprende el ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29 o el rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-61.
75. La composición de la reivindicación 74, que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.
76. Un kit que comprende:

un recipiente que alberga el ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29 o el rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-61.

77. El kit de la reivindicación 76, donde el kit comprende además un recipiente que alberga un portador farmacéuticamente aceptable.
78. El kit de la reivindicación 76 o 77, donde el ácido nucleico aislado o el rAAV y el portador farmacéuticamente aceptable se albergan en el mismo recipiente.
79. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 76-78, donde el recipiente es una jeringa.
80. Una célula hospedadora que comprende el ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29 o el rAAV de cualquiera de las reivindicaciones 30-61.
81. La célula hospedadora de la reivindicación 80, donde la célula hospedadora es una célula eucariota.
82. La célula hospedadora de la reivindicación 80 o 81, donde la célula hospedadora es una célula de un mamífero.
83. La célula hospedadora de cualquiera de las reivindicaciones 80-82, donde la célula hospedadora es una célula humana.