

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 857 702**

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)
A61K 31/712 (2006.01)
A61K 31/7125 (2006.01)
A61K 47/50 (2007.01)
C07H 21/00 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
A61P 33/02 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2017 PCT/EP2017/055925**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.09.2017 WO17157899**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2017 E 17710874 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.12.2020 EP 3430141**

54 Título: **Oligonucleótidos para la reducción de la expresión de PD-L1**

30 Prioridad:

14.03.2016 EP 16160149

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.09.2021

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es:

PEDERSEN, LYKKE;
JAVANBAKHT, HASSAN;
JACKEROTT, MALENE;
OTTOSEN, SØREN y
LUANGSAY, SOUPHALONE

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 857 702 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Oligonucleótidos para la reducción de la expresión de PD-L1

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a oligonucleótidos (oligómeros) que son complementarios al ligando 1 de muerte programada (PD-L1), que dan lugar a la reducción de la expresión de PD-L1 el hígado. La presente invención también se refiere a un procedimiento para aliviar el agotamiento de los linfocitos T provocado por una infección del hígado o
10 cáncer de hígado. Las infecciones pertinentes son las infecciones crónicas por el VHB, VHC y VHD y parasitosis como la malaria y la toxoplasmosis (por ejemplo, provocadas por protozoos de *Plasmodium*, en particular de las especies *P. vivax*, *P. malariae* y *P. falciparum*).

15 **Antecedentes**

La vía coestimuladora que consiste en el receptor de muerte programada 1 (PD-1) y su ligando, PD-L1 (o B7-H1 o CD274) es conocida por contribuir directamente al agotamiento de los linfocitos T, dando como resultado una falta de control vírico durante las infecciones crónicas del hígado. La vía PD-1 también desempeña un papel en la autoinmunidad, ya que los ratones con esta vía afectada desarrollan enfermedades autoinmunitarias.

20 Se ha demostrado que los anticuerpos que bloquean la interacción entre PD-1 y PD-L1 potencian las respuestas de los linfocitos T, en particular la respuesta de los linfocitos T citotóxicos CD8+ (véase Barber et al 2006 Nature Vol 439 p682 y Maier et al 2007 J. Immunol Vol. 178, pág. 2714).

25 El documento WO2006/042237 describe un procedimiento para diagnosticar cáncer mediante la evaluación de la expresión de PD-L1 (B7-H1) en tumores y sugiere administrar un agente, que interfiera en la interacción PD-1/PD-L1, a un paciente. Los agentes interferentes pueden ser anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, ARNip u oligonucleótidos antisentido. No hay ejemplos específicos de dichos agentes interferentes ni hay mención alguna de infecciones crónicas del hígado.

30 La inhibición de PD-L1 mediada por la interferencia de ARN que usa moléculas de ARN bicatenario (ARNb, ARNi o ARNip) también se ha descrito, por ejemplo, en los documentos WO2005/007855, WO2007/084865 y US8.507.663. Ninguno de estos describe la administración dirigida al hígado.

35 Dolina et al. 2013 Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2 e72 describen la administración in vivo de moléculas de ARNip dirigidas a PD-L1 a células de Kupffer, que potencian de este modo la eliminación de linfocitos T NK y CD8+ en ratones infectados por el CMVM. Este artículo llega a la conclusión de que las moléculas de ARNip dirigidas a PD-L1 que se administran a los hepatocitos no son eficaces en relación con la potenciación de la función efectora de los linfocitos T CD8+.

40 El enfoque de ARNip es significativamente diferente del enfoque de oligonucleótidos antisentido monocatenarios ya que la biodistribución y el modo de acción son muy diferentes. Como se describe en Xu et al 2003 Biochem. Biophys. Res. Comm. Vol 306, páginas 712-717, los oligonucleótidos antisentido y los ARNip tienen diferentes preferencias por los sitios diana en el ARNm.

45 El documento WO2016/138278 describe la inhibición de puntos de control inmunitarios, incluido el PD-L1, usando dos o más oligonucleótidos antisentido monocatenarios que están unidos en sus extremos 5'. La aplicación no menciona el VHB ni la administración dirigida al hígado.

50 **Objetivo de la invención**

La presente invención identifica novedosos oligonucleótidos y conjugados de oligonucleótidos que reducen el ARNm del PD-L1 de manera muy eficaz en las células del hígado, tanto en células parenquimatosas (por ejemplo, hepatocitos) como en células no parenquimatosas tales como las células de Kupffer y las células endoteliales
55 sinusoidales hepáticas (CESH). Al reducir o silenciar el PD-L1, los oligonucleótidos y conjugados de oligonucleótidos disminuyen la inhibición mediada por PD-1 y, de este modo, promueven la inmunoestimulación de los linfocitos T agotados. El alivio del agotamiento de los linfocitos T en una infección patógena crónica del hígado dará como resultado la recuperación del control inmunitario y la reducción de los niveles de antígenos víricos en la sangre durante una infección patógena crónica del hígado. Los linfocitos citolíticos naturales (NK) y los linfocitos T citolíticos naturales (NKT) también se pueden activar por los oligonucleótidos y conjugados de oligonucleótidos de la presente invención.

60 Los conjugados de oligonucleótidos aseguran la reducción local de PD-L1 en las células del hígado y, por lo tanto, reducen el riesgo de efectos secundarios autoinmunitarios, tales como neumonitis, hepatitis no vírica y colitis asociada con la disminución sistémica del PD-L1.

65

Sumario de la invención

- 5 En un aspecto, la presente invención es un oligonucleótido antisentido de fórmula CCtatttaacatcAGAC, en el que las letras mayúsculas representan nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras minúsculas representan nucleósidos de ADN, todos los LNA C son 5-metilcitosina y todos los enlaces internucleosídicos son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
- 10 En otro aspecto, la presente invención es un conjugado de oligonucleótidos antisentido que comprende el oligonucleótido de la presente invención y un resto de conjugado unido covalentemente a dicho oligonucleótido.
- 15 En otro aspecto, la presente invención es una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido antisentido de la presente invención o el conjugado de oligonucleótidos antisentido de la presente invención y un diluyente, disolvente, vehículo, sal y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable.
- 20 En otro aspecto, la presente invención es un procedimiento *in vitro* para modular la expresión de PD-L1 en una célula diana que está expresando el PD-L1, comprendiendo dicho procedimiento administrar el oligonucleótido antisentido de la presente invención, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de la presente invención o la composición farmacéutica de una cualquiera de la presente invención en una cantidad eficaz a dicha célula.
- 25 En otro aspecto, la presente invención es el oligonucleótido antisentido de la presente invención, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de la presente invención o la composición farmacéutica de la presente invención para su uso en el restablecimiento de la respuesta inmunitaria contra un virus.
- 30 En otro aspecto, la presente invención es el oligonucleótido antisentido de la presente invención, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de la presente invención o la composición farmacéutica de la presente invención para su uso en el restablecimiento de la respuesta inmunitaria contra un parásito.
- 35 En otro aspecto, la presente invención es el oligonucleótido antisentido de la presente invención, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de la presente invención o la composición farmacéutica de la presente invención para su uso como medicamento.
- 40 En otro aspecto, la presente invención es el oligonucleótido antisentido de la presente invención, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de la presente invención o la composición farmacéutica de la presente invención para su uso en el tratamiento de la infección por el VHB.
- 45 La presente invención se refiere a oligonucleótidos o conjugados de los mismos dirigidos a un ácido nucleico capaz de modular la expresión de PD-L1 y de tratar o prevenir enfermedades relacionadas con el funcionamiento del PD-L1. Los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos se pueden usar, en particular, para tratar enfermedades en las que se ha agotado la respuesta inmunitaria contra un agente infeccioso.
- 50 En consecuencia, en el presente documento se describen oligonucleótidos que comprenden una secuencia de nucleótidos contigua de 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de complementariedad con un ácido nucleico diana de PD-L1. El oligonucleótido puede ser un oligonucleótido antisentido, preferentemente con un diseño de gapmero. Preferentemente, el oligonucleótido es capaz de inhibir la expresión de PD-L1 mediante escisión de un ácido nucleico diana. La escisión se logra preferentemente mediante el reclutamiento de nucleasas.
- 55 En otro aspecto, el oligonucleótido de la presente invención se conjuga con al menos un resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína, tal como un resto de conjugado que comprende al menos un resto de N-acetilgalactosamina (GalNAc). El resto de conjugación y el oligonucleótido se pueden unir mediante un conector, en particular un conector bioescindible.
- 60 En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos de la invención y diluyentes, vehículos, sales y/o adyuvantes farmacéuticamente aceptables.
- 65 En el presente documento se describen procedimientos para un procedimiento *in vivo* o *in vitro* para la reducción de la expresión de PD-L1 en una célula diana que esté expresando PD-L1, mediante la administración de un oligonucleótido o una composición de la invención en una cantidad eficaz a dicha célula.
- En otro aspecto, la invención proporciona oligonucleótidos, conjugados de oligonucleótidos o composiciones farmacéuticas de la presente invención para su uso en el restablecimiento de la inmunidad contra un virus o un parásito.
- En otro aspecto, la invención proporciona oligonucleótidos, conjugados de oligonucleótidos o composiciones farmacéuticas de la presente invención para su uso como un medicamento.
- En el presente documento se describen procedimientos para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno o disfunción

mediante la administración de una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del oligonucleótido de la invención a un sujeto que padece o es susceptible a la enfermedad, trastorno o disfunción, en particular enfermedades seleccionadas de infecciones hepáticas víricas o parasitosis.

- 5 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido, los conjugados de oligonucleótidos o la composición farmacéutica de la invención se usa en el tratamiento o prevención de infecciones hepáticas víricas como las causadas por el VHB, el VHC y el VHD, o de las parasitosis como la malaria, la toxoplasmosis, la leishmaniosis y la tripanosomiasis, o del cáncer de hígado o las metástasis en el hígado.

10 Breve descripción de las figuras

Figura 1: Ilustra conjugados de oligonucleótidos antisentido ejemplares, en los que el oligonucleótido se representa como una línea ondulada (A-D) o bien como "oligonucleótido" (E-H) o como T₂ (I) y los restos de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína son restos trivalentes de N-acetilgalactosamina. Los compuestos A a D comprenden una molécula ramificadora de di-lisina, un espaciador de PEG3 y tres restos de carbohidrato de GalNAc terminal. En el compuesto A y B, el oligonucleótido se une directamente al resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína sin un conector. En el compuesto C y D, el oligonucleótido se une directamente al resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína por medio de un conector C6. Los compuestos E-1 comprenden una molécula ramificadora triple y espaciadores de longitud y estructura variables y tres restos de carbohidrato de GalNAc terminal.

Figura 2: Gráfico que muestra la atenuación de CE50 (A) y PD-L1 como % de solución salina (B) para los compuestos sometidos a prueba en el ejemplo 2, en relación con su posición en el ácido nucleico diana. Las líneas celulares en la que se sometió a prueba el compuesto son THP1 (●) y Karpas (*).

Figura 3: Fórmula estructural del clúster de GalNAc trivalente (GN2). GN2 es útil como resto de conjugación en la presente invención. La línea ondulada ilustra el sitio de conjugación del clúster con, por ejemplo, un conector amino C6 o directamente con el oligonucleótido.

Figura 4: Fórmula estructural de CMP ID NO766_2.

Figura 5: Fórmula estructural de CMP ID NO767_2.

Figura 6: Fórmula estructural de CMP ID NO768_2.

Figura 7: Fórmula estructural de CMP ID NO769_2.

Figura 8: Fórmula estructural de CMP ID NO770_2.

Figura 9: Inmunoelctrotransferencia que detecta la expresión de la proteína PD-L1 en el hígado de animales inducidos con poli(IC) después del tratamiento con solución salina y los CMP ID NO indicados. Cada transferencia muestra un oligonucleótido no conjugado frente a una versión conjugada con GalNAc del mismo oligonucleótido, transferencia A) CMP ID NO 744_1 y 755_2, B) CMP ID NO 747_1 y 758_2, C) CMP ID NO 748_1 y 759_2, D) CMP ID NO 752_1 y 763_2 y E) CMP ID NO 753_1 y 764_2. La banda superior es el control de carga de vinculina, la banda inferior es la proteína PD-L1. El primer carril en cada transferencia muestra ratones tratados con solución salina sin inducción con poli(IC). Estos ratones expresan muy poca proteína PD-L.

Figura 10: Población de células mononucleares en el hígado después del tratamiento con ● vehículo (grupo 10 y 1), ◆ vacuna de ADN (grupo 11 y 2), ○ anticuerpo anti-PD-L1 (grupo 12), ▲ vacuna de PD-L1 ASO no conjugado + ADN (grupo 7) o vacuna de PD-L1 ASO conjugado con Δ GalNAc + ADN (grupo 8), para cada grupo se representan los animales individuales y el promedio está indicado por la línea vertical para cada grupo (véase la tabla 18). Se ha evaluado la significación estadística entre el grupo de la vacuna de ADN y los tres grupos de tratamiento y, si está presente, se indica con * entre los grupos (* = p <0,05, *** = p <0,001 y **** = p <0,0001). A) Representa el número de linfocitos T en el hígado después del tratamiento. B) Representa la fracción de linfocitos T CD4+ y C) representa la fracción de linfocitos T CD8+.

Figura 11: Modulación de las células positivas para PD-L1 en el hígado después del tratamiento con ● vehículo (grupo 10 y 1), ◆ vacuna de ADN (grupo 11 y 2), ○ anticuerpo anti-PD-L1 (grupo 12), ▲ vacuna de PD-L1 ASO no conjugado + ADN (grupo 7) o vacuna de PD-L1 ASO conjugado con Δ GalNAc + ADN (grupo 8), para cada grupo se representan los animales individuales y el promedio está indicado por la línea vertical para cada grupo (véase la tabla 19). Se ha evaluado la significación estadística entre el grupo de la vacuna de ADN y los tres grupos de tratamiento y, si está presente, se indica con * entre los grupos (* = p <0,05 y **** = p <0,0001). A) Representa el porcentaje de linfocitos T CD8+ que expresan PD-L1 en el hígado después del tratamiento. B) Representa el porcentaje de linfocitos T CD4+ que expresan PD-L1 en el hígado después del tratamiento y C) representa el porcentaje de linfocitos B que expresan PD-L1 en el hígado después del tratamiento.

Figura 12: Células secretoras de citocinas CD8+ específicas del antígeno del VHB en el hígado después del tratamiento con ● vehículo (grupo 10 y 1), ◆ vacuna de ADN (grupo 11 y 2), ○ anticuerpo anti-PD-L1 (grupo 12), ▲ vacuna de PD-L1 ASO no conjugado + ADN (grupo 7) o vacuna de PD-L1 ASO conjugado con Δ GalNAc + ADN (grupo 8), para cada grupo se representan los animales individuales y el promedio está indicado por la línea vertical para cada grupo (véase la tabla 20). Se ha evaluado la significación estadística entre el grupo de la vacuna de ADN y los tres grupos de tratamiento y, si está presente, se indica con * entre los grupos (* = p < 0,05). A) Representa el porcentaje de linfocitos T CD8+ secretores de IFN-γ en el hígado que son específicos del antígeno PreS2+S del VHB después del tratamiento. B) Representa el porcentaje de linfocitos T CD8+ secretores de IFN-γ en el hígado que son específicos del antígeno central del VHB después del tratamiento y C) representa el porcentaje de linfocitos T CD8+ secretores de IFN-γ y TNF-α en el hígado que son específicos del antígeno PreS2+S del VHB después del tratamiento.

Figura 13: ADN del VHB, HBsAg y HBeAg en ratones VAA/VHB después del tratamiento con el antisentido de PD-L1 conjugado con GalNAc CMP NO: 759_2 (▼) en comparación con el vehículo (■). La línea vertical indica el final del tratamiento.

Definiciones

Oligonucleótido

El término "oligonucleótido", como se usa en el presente documento, se define como lo entiende en general el experto en la técnica, como una molécula que comprende dos o más nucleósidos unidos covalentemente. Dichos nucleósidos unidos covalentemente también se pueden denominar moléculas de ácido nucleico u oligómeros. Los oligonucleótidos se preparan normalmente en el laboratorio mediante síntesis química en fase sólida seguida de purificación. Cuando se hace referencia a una secuencia del oligonucleótido, se hace referencia a la secuencia u orden de los restos de nucleobases, o modificaciones de los mismos, de los nucleótidos o nucleósidos unidos covalentemente. El oligonucleótido de la invención es artificial, y se sintetiza químicamente, y típicamente se purifica o se aísla. El oligonucleótido de la invención puede comprender uno o más nucleósidos o nucleótidos modificados.

Oligonucleótidos antisentido

El término "oligonucleótido antisentido" como se usa en el presente documento se define como oligonucleótidos capaces de modular la expresión de un gen diana hibridando con un ácido nucleico diana, en particular con una secuencia contigua en un ácido nucleico diana. Los oligonucleótidos antisentido no son esencialmente bicatenarios y, por lo tanto, no son ARNip. Preferentemente, los oligonucleótidos antisentido de la presente invención son monocatenarios.

Secuencia de nucleótidos contigua

El término "secuencia de nucleótidos contigua" se refiere a la región del oligonucleótido que es complementaria al ácido nucleico diana. El término se usa de manera intercambiable en el presente documento con el término "secuencia de nucleobases contigua" y el término "secuencia de motivos oligonucleotídicos". En algunos modos de realización, todos los nucleótidos del oligonucleótido constituyen la secuencia de nucleótidos contigua. En algunos modos de realización, el oligonucleótido comprende la secuencia de nucleótidos contigua y puede comprender opcionalmente otro(s) nucleótido(s), por ejemplo, una región conectora de nucleótidos que se puede usar para unir un grupo funcional a la secuencia de nucleótidos contigua. La región conectora de nucleótidos puede ser o no complementaria al ácido nucleico diana.

Nucleótidos

Los nucleótidos son los componentes básicos de los oligonucleótidos y polinucleótidos y, para los fines de la presente invención, se incluyen nucleótidos tanto naturales como no naturales. En la naturaleza, los nucleótidos, tales como los nucleótidos de ADN y ARN, comprenden un resto glucídico de ribosa, un resto de nucleobase y uno o más grupos fosfato (que están ausentes en los nucleósidos). Los nucleósidos y nucleótidos también se pueden denominar de manera intercambiable "unidades" o "monómeros".

Nucleósido modificado

El término "nucleósido modificado" o "modificación de nucleósido" como se usa en el presente documento se refiere a nucleósidos modificados en comparación con el nucleósido de ADN o ARN equivalente mediante la introducción de una o más modificaciones del resto glucídico o el resto de (nucleo)base. El nucleósido modificado comprende un resto glucídico modificado. El término nucleósido modificado también se puede usar en el presente documento de manera intercambiable con el término "análogo nucleosídico" o "unidades" modificadas o "monómeros" modificados.

Enlaces internucleosídicos modificados

El término "enlace internucleosídico modificado" se define como lo entiende en general el experto en la técnica como

enlaces distintos de los enlaces fosfodiéster (PO), que acopla covalentemente dos nucleósidos conjuntamente. Los nucleótidos con enlace internucleosídico modificado también se denominan "nucleótidos modificados". En algunos modos de realización, el enlace internucleosídico modificado aumenta la resistencia a nucleasa del oligonucleótido en comparación con un enlace fosfodiéster. Para los oligonucleótidos naturales, el enlace internucleosídico incluye grupos fosfato que crean un enlace fosfodiéster entre nucleósidos contiguos. Los enlaces internucleosídicos modificados son útiles en particular en la estabilización de los oligonucleótidos para su uso in vivo, y pueden servir para proteger contra la escisión de nucleasas en regiones de nucleósidos de ADN o ARN en el oligonucleótido de la invención, por ejemplo dentro de la región gap de un oligonucleótido gapmero, así como en regiones de nucleósidos modificados.

En un modo de realización, el oligonucleótido comprende uno o más enlaces internucleosídicos modificados del fosfodiéster natural a un enlace que es, por ejemplo, más resistente al ataque de nucleasas. La resistencia a nucleasas se puede determinar incubando el oligonucleótido en suero sanguíneo o usando un ensayo de resistencia a nucleasas (por ejemplo, fosfodiesterasa de veneno de serpiente (SVPD)), ambos son bien conocidos en la técnica. Los enlaces internucleosídicos que son capaces de potenciar la resistencia a nucleasas de un oligonucleótido se denominan enlaces internucleosídicos resistentes a nucleasas. En algunos modos de realización, al menos un 50 % de los enlaces internucleosídicos en el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contigua del mismo, se modifican, tal como al menos un 60 %, tal como al menos un 70 %, tal como al menos un 80 o tal como al menos un 90 % de los enlaces internucleosídicos en el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contigua del mismo, se modifican. En algunos modos de realización, se modifican todos los enlaces internucleosídicos del oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contigua del mismo. Se reconocerá que, en algunos modos de realización, los nucleósidos que unen el oligonucleótido de la invención a un grupo funcional no nucleotídico, tal como un conjugado, pueden ser fosfodiéster. En algunos modos de realización, todos los enlaces internucleosídicos del oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contigua del mismo, son enlaces internucleosídicos resistentes a nucleasas.

Los enlaces internucleosídicos modificados se pueden seleccionar del grupo que comprende fosforotioato, difosforotioato y boranofosfato. En algunos modos de realización, los enlaces internucleosídicos modificados son compatibles con el reclutamiento de la RNasaH del oligonucleótido de la invención, por ejemplo fosforotioato, difosforotioato o boranofosfato.

En algunos modos de realización, el enlace internucleosídico comprende azufre (S), tal como un enlace internucleosídico de fosforotioato.

Un enlace internucleosídico de fosforotioato es útil en particular debido a la resistencia a las nucleasas, la farmacocinética beneficiosa y la facilidad de fabricación. En algunos modos de realización, al menos un 50 % de los enlaces internucleosídicos en el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contigua del mismo, son fosforotioato, tal como al menos un 60 %, tal como al menos un 70 %, tal como al menos un 80 o tal como al menos un 90 % de los enlaces internucleosídicos en el oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contigua del mismo, son fosforotioato. En algunos modos de realización, todos los enlaces internucleosídicos del oligonucleótido, o la secuencia de nucleótidos contigua del mismo, son fosforotioato.

En algunos modos de realización, el oligonucleótido comprende uno o más enlaces internucleosídicos neutros, en particular un enlace internucleosídico seleccionado de fosfotriéster, metilfosfonato, MMI, amida-3, formacetal o tioformacetal.

En el documento WO2009/124238 se divulgan otros enlaces internucleosídicos. En un modo de realización, el enlace internucleosídico se selecciona de los conectores divulgados en el documento WO2007/031091. En particular, el enlace internucleosídico se puede seleccionar de $-O-P(O)_2-O-$, $-O-P(O,S)-O-$, $-O-P(S)_2-O-$, $-S-P(O)_2-O-$, $-S-P(O,S)-O-$, $-S-P(S)_2-O-$, $-O-P(O)_2-S-$, $-O-P(O,S)-S-$, $-S-P(O)_2-S-$, $-O-PO(R^H)-O-$, $O-PO(OCH_3)-O-$, $-O-PO(NR^H)-O-$, $-O-PO(OCH_2CH_2S-R)-O-$, $-O-PO(BH_3)-O-$, $-O-PO(NHR^H)-O-$, $-O-P(O)_2-NR^H-$, $-NR^H-P(O)_2-O-$, $-NR^H-CO-O-$, $-NR^H-CO-NR^H-$, y/o el conector internucleosídico se puede seleccionar del grupo que consiste en: $-O-CO-O-$, $-O-CO-NR^H-$, $-NR^H-CO-CH_2-$, $-O-CH_2-CO-NR^H-$, $-O-CH_2-CH_2-NR^H-$, $-CO-NR^H-CH_2-$, $-CH_2-NR^HCO-$, $-O-CH_2-CH_2-S-$, $-S-CH_2-CH_2-O-$, $-S-CH_2-CH_2-S-$, $-CH_2-SO_2-CH_2-$, $-CH_2-CO-NR^H-$, $-O-CH_2-CH_2-NR^H-CO-$, $-CH_2-NCH_3-O-CH_2-$, donde R^H se selecciona de hidrógeno y alquilo C1-4.

Los enlaces resistentes a nucleasas, tales como los enlaces de fosforotioato, son útiles en particular en las regiones de oligonucleótidos capaces de reclutar nucleasas cuando forman un dúplex con el ácido nucleico diana, tal como la región G para gapmeros, o la región de nucleósidos no modificada de los oligómeros de cabeza (headmers) y los oligómeros de cola (tailmers). Sin embargo, los enlaces de fosforotioato también pueden ser útiles en regiones que no reclutan nucleasas y/o regiones potenciadoras de la afinidad tales como las regiones F y F' para gapmeros, o la región de nucleósidos modificada de oligómeros de cabeza y oligómeros de cola.

Sin embargo, cada una de las regiones de diseño puede comprender enlaces internucleosídicos distintos de fosforotioato, tales como enlaces fosfodiéster, en particular en regiones donde los nucleósidos modificados, tales como LNA, protegen el enlace contra la degradación por nucleasas. La inclusión de enlaces fosfodiéster, tales como uno o dos enlaces, en particular entre o adyacentes a unidades de nucleósidos modificados (típicamente en las regiones que no reclutan nucleasas) puede modificar la biodisponibilidad y/o biodistribución de un oligonucleótido - véase el

documento WO2008/113832.

Como se describe en el presente documento, todos los enlaces internucleosídicos en el oligonucleótido son enlaces fosforotioato y/o boranofosfato. Preferentemente, todos los enlaces internucleosídicos en el oligonucleótido son enlaces fosforotioato.

Nucleobase

El término nucleobase incluye el resto purina (por ejemplo, adenina y guanina) y pirimidina (por ejemplo, uracilo, timina y citosina) presentes en nucleósidos y nucleótidos que forman enlaces de hidrógeno en la hibridación de ácidos nucleicos. En el contexto de la presente invención, el término nucleobase también engloba nucleobases modificadas que pueden diferir de las nucleobases naturales, pero que son funcionales durante la hibridación de ácidos nucleicos. En este contexto, "nucleobase" se refiere tanto a nucleobases naturales tales como adenina, guanina, citosina, timidina, uracilo, xantina e hipoxantina, como a variantes no naturales. Dichas variantes se describen, por ejemplo, en Hirao et al (2012) Accounts of Chemical Research vol 45 página 2055 y Bergstrom (2009) Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl. 37 1.4.1.

En algunos modos de realización, el resto de nucleobase se modifica cambiando la purina o pirimidina a una purina o pirimidina modificada, tal como purina sustituida o pirimidina sustituida, tal como un nucleobasado seleccionado de isocitosina, pseudoisocitosina, 5-metil citosina, 5-tiozolo-citosina., 5-propinil-citosina, 5-propinil-uracilo, 5-bromouracilo 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 2'tio-timina, inosina, diaminopurina, 6-aminopurina, 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina y 2-cloro-6-aminopurina.

Los restos de nucleobase se pueden indicar mediante el código de letra para cada nucleobase correspondiente, por ejemplo, A, T, G, C o U, en el que cada letra puede incluir opcionalmente nucleobases modificadas de función equivalente. Por ejemplo, en los oligonucleótidos ejemplificados, los restos de nucleobase se seleccionan de A, T, G, C y 5-metil citosina. Opcionalmente, para los gapmeros de LNA, se pueden usar nucleósidos de LNA de 5-metilcitosina.

Oligonucleótido modificado

El término oligonucleótido modificado describe un oligonucleótido que comprende uno o más nucleósidos modificados con glúcidos y/o enlaces internucleosídicos modificados. El término "oligonucleótido quimérico" es un término que se ha usado en la literatura para describir oligonucleótidos con nucleósidos modificados.

Complementariedad

El término "complementariedad" describe la capacidad de emparejamiento de bases de Watson-Crick de nucleósidos/nucleótidos. Los pares de bases de Watson-Crick son guanina (G)-citosina (C) y adenina (A) - timina (T)/uracilo (U). Se entenderá que los oligonucleótidos pueden comprender nucleósidos con nucleobases modificadas, por ejemplo, la 5-metil citosina se usa a menudo en lugar de citosina y, como tal, el término complementariedad engloba el emparejamiento de bases de Watson Crick entre nucleobases no modificadas y modificadas (véase, por ejemplo, Hirao et al (2012) Accounts of Chemical Research vol 45 página 2055 y Bergstrom (2009) Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl. 37 1.4.1).

El término "% complementario", como se usa en el presente documento, se refiere al número de nucleótidos en porcentaje de una secuencia de nucleótidos contigua en una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, oligonucleótido) que, en una posición dada, son complementarios a (es decir, forman pares de bases de Watson Crick con) una secuencia de nucleótidos contigua, en una posición dada de una molécula de ácido nucleico separada (por ejemplo, el ácido nucleico diana). El porcentaje se calcula contando el número de bases alineadas que forman pares entre las dos secuencias (cuando se alinean con la secuencia diana 5'-3' y la secuencia de oligonucleótidos de 3'-5'), dividiendo entre el número total de nucleótidos en el oligonucleótido y multiplicando por 100. En dicha comparación, una nucleobase/nucleótido que no se alinea (forma un par de bases) se denomina emparejamiento erróneo.

El término "completamente complementario" se refiere a una complementariedad de un 100 %.

El siguiente es un ejemplo de un oligonucleótido (SEQ ID NO: 5) que es completamente complementario al ácido nucleico diana (SEQ ID NO: 772).

5'gcagtagagccaatta3' (SEQ ID NO:772)

3'cgtcatctcggttaat5' (SEQ ID NO: 5)

Identidad

El término "identidad", como se usa en el presente documento, se refiere al número de nucleótidos en porcentaje de una secuencia de nucleótidos contigua en una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, oligonucleótido) que, en una posición dada, son idénticos a (es decir, en su capacidad para formar pares de bases de Watson Crick con el

nucleósido complementario) una secuencia de nucleótidos contigua, en una posición dada de una molécula de ácido nucleico separada (por ejemplo, el ácido nucleico diana). El porcentaje se calcula contando el número de bases alineadas que son idénticas entre las dos secuencias, incluyendo los huecos, dividiendo entre el número total de nucleótidos en el oligonucleótido y multiplicando por 100. Porcentaje de identidad = (coincidencias x 100)/Longitud de la región alineada (con huecos).

Hibridación

El término "hibridar" o "hibrida" como se usa en el presente documento se debe entender como dos cadenas de ácido nucleico (por ejemplo, un oligonucleótido y un ácido nucleico diana) que forman enlaces de hidrógeno entre pares de bases en cadenas opuestas formando de este modo un dúplex. La afinidad de la unión entre dos cadenas de ácido nucleico es la fuerza de la hibridación. A menudo se describe en términos de la temperatura de fusión (T_m) definida como la temperatura a la que la mitad de los oligonucleótidos forman un dúplex con el ácido nucleico diana. En condiciones fisiológicas, la T_m no es estrictamente proporcional a la afinidad (Mergny y Lacroix, 2003, *Oligonucleotides* 13:515-537). La energía libre de Gibbs en estado estándar ΔG° es una representación más precisa de la afinidad de unión y está relacionada con la constante de disociación (K_d) de la reacción por $\Delta G^\circ = -RT \ln(K_d)$, donde R es la constante de gas y T es la temperatura absoluta. Por lo tanto, una ΔG° muy baja de la reacción entre un oligonucleótido y el ácido nucleico diana refleja una fuerte hibridación entre el oligonucleótido y el ácido nucleico diana. La ΔG° es la energía asociada con una reacción donde las concentraciones acuosas son 1 M, el pH es 7 y la temperatura es 37 °C. La hibridación de oligonucleótidos con un ácido nucleico diana es una reacción espontánea y para reacciones espontáneas ΔG° es menor que cero. La ΔG° se puede medir experimentalmente, por ejemplo, mediante el uso del procedimiento de calorimetría de titulación isotérmica (ITC) como se describe en Hansen et al., 1965, *Chem. Comm.* 36-38 y Holdgate et al., 2005, *Drug Discov Today*. El experto en la técnica sabrá que hay equipo comercial disponible para mediciones de la ΔG° . La ΔG° también se puede estimar numéricamente usando el modelo de vecino más cercano como lo describe SantaLucia, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA*. 95: 1460-1465 usando parámetros termodinámicos derivados apropiadamente descritos por Sugimoto et al., 1995, *Biochemistry* 34:11211-11216 y McTigue et al., 2004, *Biochemistry* 43:5388-5405. Para tener la posibilidad de modular su ácido nucleico diana pretendido por hibridación, los oligonucleótidos de la presente invención hibridan con un ácido nucleico diana con valores estimados de ΔG° por debajo de -10 kcal para oligonucleótidos que tienen una longitud de 10-30 nucleótidos. En algunos modos de realización, el grado o la fuerza de hibridación se mide mediante la energía libre de Gibbs en estado estándar ΔG° . Los oligonucleótidos pueden hibridar con un ácido nucleico diana con valores estimados de ΔG° por debajo del intervalo de -10 kcal, tal como por debajo de -15 kcal, tal como por debajo de -20 kcal y tal como por debajo de -25 kcal para oligonucleótidos que tienen una longitud de 8-30 nucleótidos. En algunos modos de realización, los oligonucleótidos hibridan con un ácido nucleico diana con un valor estimado de ΔG° de -10 a -60 kcal, tal como de -12 a -40, tal como de -15 a -30 kcal o de -16 a -27 kcal, tal como de -18 a -25 kcal.

Ácido nucleico diana

De acuerdo con la presente invención, el ácido nucleico diana es un ácido nucleico que codifica PD-L1 de mamífero y puede ser, por ejemplo, un gen, un ARN, un ARNm y un preARNm, un ARNm maduro o una secuencia de ADNc. Por lo tanto, la diana se puede denominar ácido nucleico diana de PD-L1. El oligonucleótido como se describe en el presente documento se puede, por ejemplo, dirigir a regiones de exones de un PD-L1 de mamífero, o se puede, por ejemplo, dirigir a una región de intrones en el pre-ARNm de PD-L1 (véase la tabla 1).

Tabla 1: Exones e intrones de PD-L1 humano

Regiones exónicas en el preARNm de PD-L1 humano (SEQ ID NO 1)			Regiones intrónicas en el preARNm de PD-L1 humano (SEQ ID NO 1)		
ID	inicio	fin	ID	inicio	fin
e1	1	94	i1	95	5597
e2	5598	5663	i2	5664	6576
e3	6577	6918	i3	6919	12331
e4	12332	12736	i4	12737	14996
e5	14997	15410	i5	15411	16267
e6	16268	16327	i6	16328	17337
e7	17338	20064			

De forma adecuada, el ácido nucleico diana codifica una proteína PD-L1, en particular PD-L1 de mamífero, tal como PD-L1 humana (véase, por ejemplo, las tablas 2 y 3, que proporcionan referencia a las secuencias de ARNm y preARNm para PD-L1 de humano, mono y ratón). En el contexto de la presente invención, el preARNm también se considera un ácido nucleico que codifica una proteína.

En algunos modos de realización, el ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, 2 y 3 o variantes naturales del mismo (por ejemplo, secuencias que codifican una proteína PD-L1 de mamífero).

5 Si se emplea el oligonucleótido de la invención en investigación o diagnóstico, el ácido nucleico diana puede ser un ADNc o un ácido nucleico sintético derivado de ADN o ARN.

10 Para la aplicación *in vivo* o *in vitro*, el oligonucleótido de la invención es típicamente capaz de inhibir la expresión del ácido nucleico diana de PD-L1 en una célula que expresa el ácido nucleico diana de PD-L1. La secuencia contigua de nucleobases del oligonucleótido de la invención es típicamente complementaria al ácido nucleico diana de PD-L1, como se mide a lo largo de la longitud del oligonucleótido, opcionalmente con la excepción de uno o dos emparejamientos erróneos, y opcionalmente excluyendo las regiones conectoras basadas en nucleótidos que pueden unir el oligonucleótido con un grupo funcional opcional tal como un conjugado, u otros nucleótidos terminales no complementarios (por ejemplo, región D' o D"). El ácido nucleico diana, en algunos modos de realización, puede ser un ARN o ADN, tal como un ARN mensajero, tal como un ARNm maduro o un preARNm. En algunos modos de realización, el ácido nucleico diana es un ARN o ADN que codifica la proteína PD-L1 de mamífero, como PD-L1 humana, por ejemplo, la secuencia de preARNm de PD-L1 humana, tal como la divulgada como SEQ ID NO 1 o la secuencia de ARNm humano con el número de referencia de NCBI NM 014143. En las tablas 2 y 3 se proporciona más información sobre ácidos nucleicos diana ejemplares.

20 Tabla 2: Información sobre genoma y ensamblaje para PD-L1 en diversas especies.

Especie	Cr.	Hebra	Coordenadas genómicas		Ensamblaje	Secuencia de referencia de NCBI* número de acceso para ARNm
			Inicio	Fin		
Humano	9	fwd	5450503	5470566	GRCh38:CM000671.2	NM_014143
Macaco cangrejero	15		73560846	73581371	GCF_000364345.1	XM_005581779
Ratón	19	fwd	29367455	29388095	GRCm38:CM001012.2	NM_021893

Fwd = hebra directa. Las coordenadas del genoma proporcionan la secuencia de pre-ARNm (secuencia genómica). La referencia de NCBI proporciona la secuencia de ARNm (secuencia de ADNc).

25 *La base de datos de secuencias de referencia del Centro Nacional de Información Biotecnológica es un conjunto exhaustivo, integrado, no redundante y bien anotado de secuencias de referencia que incluyen genómica, transcrito y proteína. Está alojado en www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq.

30 Tabla 3: Detalles de la secuencia de PD-L1 en las diversas especies.

Especie	Tipo de ARN	Longitud (nt)	SEQ ID NO
Humano	preARNm	20064	1
Macaco cangrejero	preARNm GCF ref	20261	2
Macaco cangrejero	preARNm interno	20340	3
Ratón	preARNm	20641	4

Secuencia diana

35 El término "secuencia diana" como se usa en el presente documento se refiere a una secuencia de nucleótidos presente en el ácido nucleico diana que comprende la secuencia de nucleobases que es complementaria al oligonucleótido de la invención. En algunos modos de realización, la secuencia diana consiste en una región del ácido nucleico diana que es complementaria a la secuencia de nucleótidos contigua del oligonucleótido de la invención. En algunos modos de realización, la secuencia diana es más larga que la secuencia complementaria a un único oligonucleótido y puede, por ejemplo, representar una región preferente del ácido nucleico diana al que se pueden dirigir varios oligonucleótidos de la invención.

La secuencia diana puede ser una subsecuencia del ácido nucleico diana.

45 En algunos modos de realización, la subsecuencia es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en a1-a149 (véase las tablas 4). En algunos modos de realización, la subsecuencia es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en un exón de ARNm de PD-L1 humano, tal como un exón de ARNm humano de PD-L1 seleccionado del grupo que consiste en e1, e2, e3, e4, e5, e6 y e7 (véase la tabla 1 anterior).

50 En algunos modos de realización, la subsecuencia es una secuencia seleccionada del grupo que consiste en un intrón de ARNm de PD-L1 humano, tal como un intrón de ARNm humano de PD-L1 seleccionado del grupo que consiste en i1, i2, i3, i4, i5 e i6 (véase la tabla 1 anterior).

El oligonucleótido como se describe en el presente documento comprende una secuencia de nucleótidos contigua que es complementaria a o se hibrida con el ácido nucleico diana, tal como una subsecuencia del ácido nucleico diana, tal como una secuencia diana descrita en el presente documento.

5 El oligonucleótido como se describe en el presente documento comprende una secuencia de nucleótidos contigua de al menos 8 nucleótidos que es complementaria a o se hibrida con una secuencia diana presente en la molécula de ácido nucleico diana. La secuencia de nucleótidos contigua (y, por lo tanto, la secuencia diana) comprende al menos 8 nucleótidos contiguos, tal como 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23., 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos contiguos, tal como de 12-25, tal como de 14-18 nucleótidos contiguos.

Célula diana

15 El término "célula diana" como se usa en el presente documento se refiere a una célula que está expresando el ácido nucleico diana. Como se describe en el presente documento, la célula diana puede ser *in vivo* o *in vitro*. En algunos modos de realización, la célula diana es una célula de mamífero, tal como una célula de roedor, tal como una célula de ratón o una célula de rata, o una célula de primate, tal como una célula de mono o una célula de humano.

20 En modos de realización preferentes, la célula diana expresa ARNm de PD-L1, tal como preARNm de PD-L1 o ARNm maduro de PD-L1. La cola de poli(A) del ARNm de PD-L1 se descarta típicamente para dirigirse a oligonucleótidos antisentido.

Variante natural

25 El término "variante natural" se refiere a variantes o transcritos del gen PD-L1 que se originan en los mismos locus genéticos que el ácido nucleico diana, pero que pueden diferir, por ejemplo, en virtud de la degeneración del código genético, lo que provoca una multiplicidad de codones que codifican el mismo aminoácido, o debido a un corte y empalme alternativo del preARNm, o la presencia de polimorfismos, tales como polimorfismos de nucleótido único y variantes alélicas. En base a la presencia de la secuencia complementaria suficiente al oligonucleótido, el oligonucleótido de la invención se puede dirigir, por lo tanto, al ácido nucleico diana y las variantes naturales del mismo.

35 En algunos modos de realización, las variantes naturales tienen al menos un 95 %, tal como al menos un 98 % o al menos un 99 %, de homología con un ácido nucleico diana de PD-L1 de mamífero, tal como un ácido nucleico diana seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO 1, 2 y 3.

Son conocidos numerosos polimorfismos de nucleótido único en el gen PD-L1, por ejemplo, los divulgados en la siguiente tabla (la secuencia de inicio/referencia de preARNm humano es SEQ ID NO 2)

Nombre de la variante	Alelos variantes	alelo secundario	Frecuencia de alelos secundarios	Inicio en SEQ ID NO: 1
rs73397192	G/A	A	0,10	2591
rs12342381	A/G	G	0,12	308
rs16923173	G/A	A	0,13	14760
rs2890658	C/A	A	0,16	14628
rs2890657	G/C	C	0,21	2058
rs3780395	A/G	A	0,21	14050
rs147367592	AG/-	-	0,21	13425
rs7023227	T/C	T	0,22	6048
rs2297137	G/A	A	0,23	15230
rs 1329946	G/A	A	0,23	2910
rs5896124	-/G	G	0,23	2420
rs61061063	T/C	C	0,23	11709

ES 2 857 702 T3

Nombre de la variante	Alelos variantes	alelo secundario	Frecuencia de alelos secundarios	Inicio en SEQ ID NO: 1
rs1411263	T/C	C	0,23	8601
rs59906468	A/G	G	0,23	15583
rs6476976	T/C	T	0,24	21012
rs35744625	C/A	A	0,24	3557
rs17804441	T/C	C	0,24	7231
rs148602745	C/T	T	0,25	22548
rs4742099	G/A	A	0,25	20311
rs10815228	T/C	C	0,25	21877
rs58817806	A/G	G	0,26	20769
rs822342	T/C	T	0,27	3471
rs10481593	G/A	A	0,27	7593
rs822339	A/G	A	0,28	2670
rs860290	A/C	A	0,28	2696
rs822340	A/G	A	0,28	2758
rs822341	T/C	T	0,28	2894
rs12002985	C/G	C	0,28	6085
rs822338	C/T	C	0,28	1055
rs866066	C/T	T	0,28	451
rs6651524	A/T	T	0,28	8073
rs6415794	A/T	A	0,28	8200
rs4143815	G/C	C	0,28	17755
rs111423622	G/A	A	0,28	24096
rs6651525	C/A	A	0,29	8345
rs4742098	A/G	G	0,29	19995
rs10975123	C/T	T	0,30	10877
rs2282055	T/G	G	0,30	5230
rs4742100	A/C	C	0,30	20452
rs60520638	-/TC	TC	0,30	9502
rs17742278	T/C	C	0,30	6021
rs7048841	T/C	T	0,30	10299
rs10815229	T/G	G	0,31	22143
rs10122089	C/T	C	0,32	13278

Nombre de la variante	Alelos variantes	alelo secundario	Frecuencia de alelos secundarios	Inicio en SEQ ID NO: 1
rs1970000	C/A	C	0,32	14534
rs112071324	AGAGAG/-	AGAGAG	0,33	16701
rs2297136	G/A	G	0,33	17453
rs10815226	A/T	T	0,33	9203
rs10123377	A/G	A	0,36	10892
rs10123444	A/G	A	0,36	11139
rs7042084	G/T	G	0,36	7533
rs10114060	G/A	A	0,36	11227
rs7028894	G/A	G	0,36	10408
rs4742097	C/T	C	0,37	5130
rs1536926	G/T	G	0,37	13486
rs1411262	C/T	T	0,39	8917
rs7041009	G/A	A	0,45	12741

Modulación de la expresión

5 El término "modulación de la expresión" como se usa en el presente documento se debe entender como un término general para la capacidad de un oligonucleótido para alterar la cantidad de PD-L1 en comparación con la cantidad de PD-L1 antes de la administración del oligonucleótido. De forma alternativa, la modulación de la expresión se puede determinar por referencia a un experimento de control. Se entiende, en general, que el control es un individuo o una célula diana tratada con una composición salina o un individuo o una célula diana tratada con un oligonucleótido no dirigido (simulado). Sin embargo, también puede ser un individuo tratado con el tratamiento de referencia.

10 Un tipo de modulación es la capacidad de un oligonucleótido para inhibir, regular por disminución, reducir, suprimir, eliminar, detener, bloquear, evitar, disminuir, bajar, impedir o terminar la expresión de PD-L1, por ejemplo, mediante degradación de ARNm o bloqueo de la transcripción. Otro tipo de modulación es la capacidad de un oligonucleótido para restablecer, aumentar o potenciar la expresión de PD-L1, por ejemplo, mediante la reparación de sitios de empalme o la prevención del empalme o la eliminación o bloqueo de mecanismos inhibidores tal como la represión de microARN.

Nucleósidos modificados de alta afinidad

20 Un nucleósido modificado de alta afinidad es un nucleótido modificado que, cuando se incorpora en el oligonucleótido, potencia la afinidad del oligonucleótido por su diana complementaria, por ejemplo como se mide por la temperatura de fusión (T^m). Un nucleósido modificado de alta afinidad de la presente invención preferentemente da como resultado un aumento en la temperatura de fusión entre +0,5 y +12 °C, más preferentemente entre +1,5 y +10 °C y lo más preferentemente entre +3 y +8 °C por nucleósido modificado. Son conocidos en la técnica numerosos nucleósidos modificados de alta afinidad e incluyen, por ejemplo, muchos nucleósidos sustituidos en 2' así como ácidos nucleicos bloqueados (LNA) (véase, por ejemplo, Freier y Altman; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 y Uhlmann; Curr. Opin. in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213).

Modificaciones de glúcidos

30 El oligómero de la invención puede comprender uno o más nucleósidos que tienen un resto glucídico modificado, es decir, una modificación del resto glucídico en comparación con el resto glucídico de ribosa que se encuentra en el ADN y el ARN.

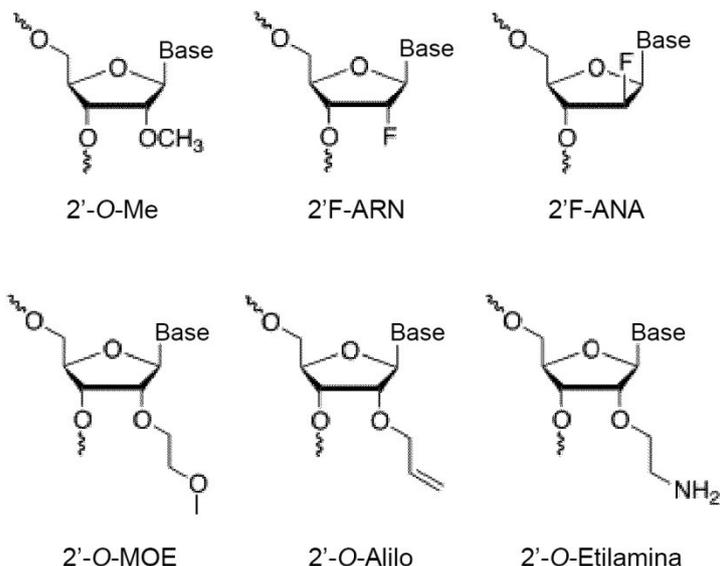
35 Se han elaborado numerosos nucleósidos con modificación del resto glucídico de ribosa, principalmente con el objetivo de mejorar determinadas propiedades de los oligonucleótidos, tales como la afinidad y/o la resistencia a las nucleasas.

Dichas modificaciones incluyen aquellas donde se modifica la estructura del anillo de ribosa, por ejemplo, por reemplazo con un anillo de hexosa (HNA) o un anillo bicíclico, que típicamente tienen un puente birradical entre los carbonos C2 y C4 en el anillo de ribosa (LNA), o un anillo de ribosa no enlazado que típicamente carece de un enlace entre los carbonos C2 y C3 (por ejemplo, UNA). Otros nucleósidos modificados en el glúcido incluyen, por ejemplo, ácidos nucleicos de biciclohexosa (documento WO2011/017521) o ácidos nucleicos tricíclicos (documento WO2013/154798). Los nucleósidos modificados también incluyen nucleósidos donde el resto glucídico se reemplaza con un resto no glucídico, por ejemplo, en el caso de ácidos peptidonucleicos (APN), o ácidos morfolinonucleicos.

Las modificaciones de glúcidos también incluyen modificaciones realizadas por medio de la alteración de los grupos sustituyentes en el anillo de ribosa a grupos distintos de hidrógeno, o el grupo 2'-OH que se encuentra naturalmente en los nucleósidos de ADN y ARN. Los sustituyentes se pueden introducir, por ejemplo, en las posiciones 2', 3', 4' o 5'. Los nucleósidos con restos glucídicos modificados también incluyen nucleósidos modificados en 2', tales como nucleósidos sustituidos en 2'. De hecho, se ha prestado mucha atención al desarrollo de nucleósidos sustituidos en 2' y se ha descubierto que numerosos nucleósidos sustituidos en 2' tienen propiedades beneficiosas cuando se incorporan en oligonucleótidos, tales como una resistencia potenciada de los nucleósidos y una afinidad potenciada.

Nucleósidos modificados en 2'.

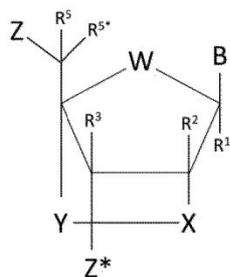
Un nucleósido modificado en el glúcido en 2' es un nucleósido que tiene un sustituyente distinto de H o -OH en la posición 2' (nucleósido sustituido en 2') o comprende un birradical enlazado en 2', e incluye nucleósidos sustituidos en 2' y nucleósidos de LNA (puente birradical en 2' - 4'). Por ejemplo, el glúcido modificado en 2' puede proporcionar una afinidad de unión potenciada y/o una resistencia incrementada de las nucleasas al oligonucleótido. Ejemplos de nucleósidos modificados sustituidos en 2' son 2'-O-alkil-ARN, 2'-O-metil-ARN, 2'-alcoxi-ARN, 2'-O-metoxietil-ARN (MOE), 2'-amino- ADN, 2'-fluoro-ARN y nucleósido 2'-F-ANA. Para otros ejemplos, véase, por ejemplo, Freier y Altmann; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 y Uhlmann; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 293-213, y Deleavey y Damha, Chemistry and Biology 2012, 19, 937. A continuación se presentan ilustraciones de algunos nucleósidos modificados sustituidos en 2'.



Nucleósidos de ácidos nucleicos bloqueados (LNA).

Los nucleósidos de LNA son nucleósidos modificados que comprenden un grupo conector (denominado birradical o puente) entre C2' y C4' del anillo glucídico de ribosa de un nucleótido. Estos nucleósidos también se denominan ácido nucleico con puente o ácido nucleico bicíclico (BNA) en la literatura.

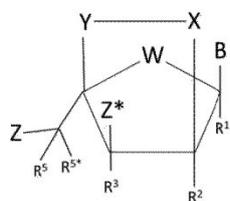
Como se describe en el presente documento, el nucleósido modificado o los nucleósidos de LNA del oligómero de la invención tienen una estructura general de fórmula I o II:



Fórmula I

β -D

O



Fórmula II

α -L

en la que W se selecciona de -O-, -S-, -N(R^a)-, -C(R^aR^b)-, tal como, en algunos modos de realización -O-;

5 B designa una nucleobase o un resto de nucleobase modificado;

Z designa un enlace internucleosídico a un nucleósido contiguo, o un grupo terminal 5';

Z* designa un enlace internucleosídico a un nucleósido contiguo, o un grupo terminal 3';

10 X designa un grupo seleccionado de la lista que consiste en -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)₂-, -S-, -SO₂-, -N(R^a)- y >C=Z

15 En algunos modos de realización, X se selecciona del grupo que consiste en: -O-, -S-, NH-, NR^aR^b-, -CH₂-, CR^aR^b-, -C(=CH₂)- y -C(=CR^aR^b)-

En algunos modos de realización, X es -O-

20 Y designa un grupo seleccionado del grupo que consiste en -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)₂-, -S-, -SO₂-, -N(R^a)- y >C=Z

En algunos modos de realización, Y se selecciona del grupo que consiste en: -CH₂-, -C(R^aR^b)-, -CH₂CH₂-, -C(R^aR^b)-C(R^aR^b)-, -CH₂CH₂CH₂-, -C(R^aR^b)C(R^aR^b)C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)- y -C(R^a)=N-

25 En algunos modos de realización, Y se selecciona del grupo que consiste en: -CH₂-, -CHR^a-, -CHCH₃-, CR^aR^b-

o -X-Y- conjuntamente designan un grupo conector bivalente (también denominado radical) conjuntamente designan un grupo conector bivalente que consiste en 1, 2, 3 o 4 grupos/átomos seleccionados del grupo que consiste en -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)₂-, -S-, -SO₂-, -N(R^a)- y >C=Z,

30 En algunos modos de realización, -X-Y- designa un birradical seleccionado del grupo que consiste en: -X-CH₂-, -X-CR^aR^b-, -X-CHR^a-, -X-C(HCH₃)-, -O-Y-, -O-CH₂-, -S-CH₂-, -NH-CH₂-, -O-CHCH₃-, -CH₂-O-CH₂-, -O-CH(CH₃CH₃)-, -O-CH₂-CH₂-, OCH₂-CH₂-CH₂-, -O-CH₂OCH₂-, -O-NCH₂-, -C(=CH₂)-CH₂-, -NR^a-CH₂-, N-O-CH₂-, -S-CR^aR^b- y -S-CHR^a-.

35 En algunos modos de realización -O-CH₂- o -O-CH(CH₃)-

en la que Z se selecciona -O-, -S- y -N(R^a)-,

40 y R^a y, cuando está presente R^b, cada uno se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido, alquenilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido, alquinilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆ opcionalmente sustituido, alcoxilquilo C₂₋₆, alquenilo C₂₋₆, carboxi, alcóxicarbonilo C₁₋₆, alquilcarbonilo C₁₋₆, formilo, arilo, ariloxi-carbonilo, ariloxi, arilcarbonilo, heteroarilo, heteroariloxi-carbonilo, heteroariloxi, heteroarilcarbonilo, amino, mono- y di(alquilo C₁₋₆)amino, carbamoilo, mono- y di(alquilo C₁₋₆)aminocarbonilo, amino-alquilo C₁₋₆-aminocarbonilo, mono- y di(alquilo C₁₋₆) amino-alquilo C₁₋₆-aminocarbonilo, alquilo C₁₋₆-aminocarbonilo, carbamido, alcanóilo C₁₋₆, sulfono, alquilsulfonilo C₁₋₆, nitro, azido, sulfanilo, alquilitio C₁₋₆, halógeno, donde arilo y heteroarilo puede estar opcionalmente sustituidos y donde dos sustituyentes geminales R^a y R^b conjuntamente pueden designar metileno opcionalmente sustituido (=CH₂), en el que para todos los centros quirales, se pueden encontrar grupos asimétricos en orientación R o S.

50 en la que R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido, alquenilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido, alquinilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido, hidroxilo,

- 5 alcoxí C₁₋₆, alcoxialquilo C₂₋₆, alquenioloxi C₂₋₆, carboxi, alcoxycarbonilo C₁₋₆, alquilcarbonilo C₁₋₆, formilo, arilo, ariloxi-carbonilo, ariloxi, arilcarbonilo, heteroarilo, heteroariloxi-carbonilo, heteroariloxi, heteroarilcarbonilo, amino, mono- y di(alquilo C₁₋₆)amino, carbamoilo, mono- y di(alquilo C₁₋₆)-aminocarbonilo, amino-alquilo C₁₋₆-aminocarbonilo, mono- y di(alquilo C₁₋₆) amino-alquilo C₁₋₆-aminocarbonilo, alquilo C₁₋₆-aminocarbonilo, carbamido, alcanilo C₁₋₆, sulfono, alquilsulfoniloxi C₁₋₆, nitro, azido, sulfanilo, alquiltio C₁₋₆, halógeno, donde arilo y heteroarilo puede estar opcionalmente sustituidos y donde dos sustituyentes geminales conjuntamente pueden designar oxo, tioxo, imino o metileno opcionalmente sustituido.
- 10 En algunos modos de realización, R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} se seleccionan independientemente de alquilo C₁₋₆, tal como metilo, e hidrógeno.
- En algunos modos de realización, R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno.
- 15 En algunos modos de realización, R¹, R², R³ son todos hidrógeno, y R⁵ y R^{5*} también es hidrógeno y el otro de R⁵ y R^{5*} es distinto de hidrógeno, tal como alquilo C₁₋₆ tal como metilo.
- En algunos modos de realización, R^a es hidrógeno o bien metilo. En algunos modos de realización, cuando está presente, R^b es hidrógeno o bien metilo.
- 20 En algunos modos de realización, uno o ambos de R^a y R^b es hidrógeno
- En algunos modos de realización, uno de R^a y R^b es hidrógeno y el otro es distinto de hidrógeno
- 25 En algunos modos de realización, uno de R^a y R^b es metilo y el otro es hidrógeno
- En algunos modos de realización, tanto R^a como R^b son metilo.
- 30 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -O-CH₂-, W es O, y todos de R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de LNA se divulgan en los documentos WO99/014226, WO00/66604, WO98/039352 y WO2004/046160 e incluyen lo que se conoce comúnmente como nucleósidos de **beta-D-oxi LNA** y **alfa-L-oxi LNA**.
- 35 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -S-CH₂-, W es O, y todos de R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de **tio LNA** se divulgan en los documentos WO99/014226 y WO2004/046160.
- 40 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -IMH-CH₂-, W es O, y todos de R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de **amino LNA** se divulgan en los documentos WO99/014226 y WO2004/046160.
- 45 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -O-CH₂-CH₂- o -O-CH₂-CH₂-CH₂-, W es O, y todos de R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de LNA se divulgan en el documento WO00/047599 y en Morita et al, Bioorganic & Med. Chem. Lett. 12 73-76 e incluyen lo que se conoce comúnmente como ácidos nucleicos con puente de 2'-O-4'C-etileno (ENA).
- 50 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -O-CH₂-, W es O, y todos de R¹, R², R³ y uno de R⁵ y R^{5*} son hidrógeno, y el otro de R⁵ y R^{5*} es distinto de hidrógeno, tal como alquilo C₁₋₆, tal como metilo. Dichos nucleósidos de LNA **sustituidos en 5'** se divulgan en el documento WO2007/134181.
- En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -O-CR^aR^b-, en el que uno o ambos de R^a y R^b son distintos de hidrógeno, tal como metilo, W es O, y todos de R¹, R², R³, y uno de R⁵ y R^{5*} son hidrógeno, y el otro de R⁵ y R^{5*} es distinto de hidrógeno, tal como alquilo C₁₋₆, tal como metilo. Dichos **nucleósidos de LNA bis modificados** se divulgan en el documento WO2010/077578.
- 55 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- designa el grupo conector bivalente -O-CH(CH₂OCH₃)- (ácido nucleico bicíclico 2'O-metoxietil - Seth et al., 2010, J. Org. Chem. Vol 75(5) págs. 1569-81). En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- designa el grupo conector bivalente -O-CH(CH₂OCH₃)- (ácido nucleico bicíclico 2'O-etil - Seth et al., 2010, J. Org. Chem. Vol 75(5) págs. 1569-81). En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -O-CHR^a-, W es O, y todos de R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de LNA **sustituidos en 6'** se divulgan en los documentos WO10036698 y WO07090071.
- 60 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -O-CH(CH₂OCH₃)-, W es O, y todos de R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de LNA también son conocidos como **MOE cíclicos** en la técnica (cMOE) y se divulgan en el documento WO07090071.
- 65 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- designa el grupo conector bivalente -O-CH(CH₃)-. - en la configuración R- o bien S-. En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- conjuntamente designan el grupo conector bivalente -O-CH₂-O-CH₂- (Seth et al., 2010, J. Org. Chem). En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es -O-CH(CH₃)-, W es O, y todos de R¹, R², R³, R⁵ y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de LNA de 6'

metilo también son conocidos como **nucleósidos de cET** en la técnica y pueden ser estereoisómeros (S)cET o bien (R)cET, como se divulga en los documentos WO07090071 (beta-D) y WO2010/036698 (alfa-L).

5 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es $-O-CR^aR^b-$, en el que en ni R^a ni R^b es hidrógeno, W es O, y todos de R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno. En algunos modos de realización, R^a y R^b son ambos metilo. Dichos nucleósidos de LNA **disustituídos en 6'** se divulgan en el documento WO2009006478.

10 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es $-S-CHR^a-$, W es O, y todos de R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de **LNA tiosustituídos en 6'** se divulgan en el documento WO11156202. En algunos modos de realización de LNA tiosustituído en 6', R^a es metilo.

15 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es $-C(=CH_2)-C(R^aR^b)-$, tal como $-C(=CH_2)-CH_2-$, o $-C(=CH_2)-CH(CH_3)-$ W es O, y todos de R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno. Dichos nucleósidos de LNA de **vinilo carbono** se divulgan en los documentos WO08154401 y WO09067647.

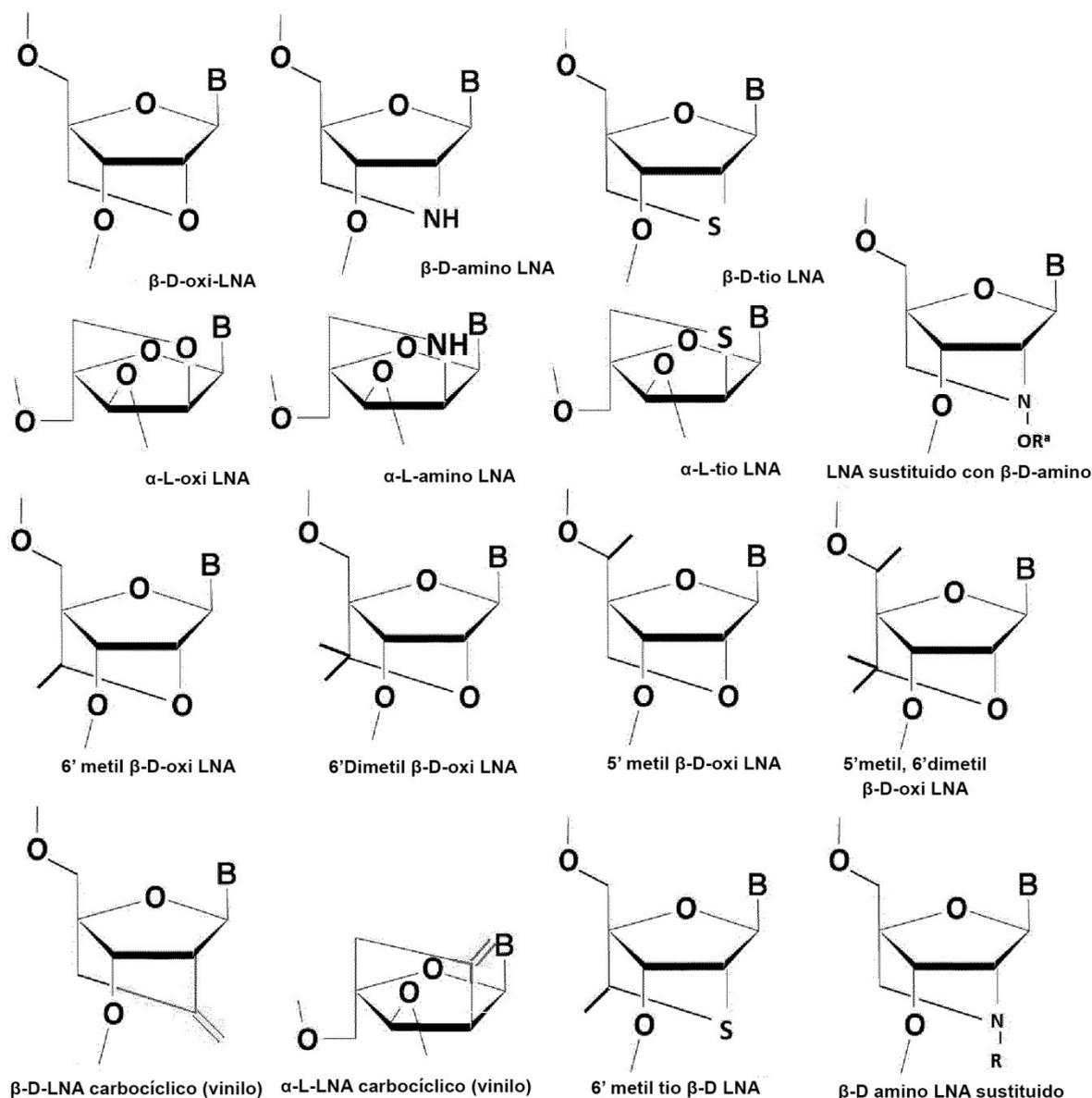
20 En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es $-N(-OR^a)-$, W es O, y todos de R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno. En algunos modos de realización R^a es alquilo C_{1-6} tal como metilo. Dichos nucleósidos de LNA también son conocidos como LNA N sustituidos y se divulgan en el documento WO2008/150729. En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- conjuntamente designa el grupo conector bivalente $-O-NR^a-CH_3-$ (Seth et al., 2010, J. Org. Chem). En algunos modos de realización, el birradical -X-Y- es $-N(R^a)-$, W es O, y todos de R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno. En algunos modos de realización R^a es alquilo C_{1-6} tal como metilo.

25 En algunos modos de realización, uno o ambos de R^5 y R^{5*} es hidrógeno y, cuando está sustituido, el otro de R^5 y R^{5*} es alquilo C_{1-6} tal como metilo. En dicho modo de realización, R^1 , R^2 , R^3 pueden ser todos hidrógeno, y el birradical -X-Y- se puede seleccionar de $-O-CH_2-$ o $-OC(HCR^a)-$, tal como $-O-C(HCH_3)-$.

30 En algunos modos de realización, el birradical es $-CR^aR^b-O-CR^aR^b-$, tal como CH_2-O-CH_2- , W es O y todos de R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno. En algunos modos de realización R^a es alquilo C_{1-6} tal como metilo. Dichos nucleósidos de LNA también son conocidos como nucleótidos conformacionalmente restringidos (CRN) y se divulgan en el documento WO2013036868. En algunos modos de realización, el birradical es $-O-CR^aR^b-O-CR^aR^b-$, tal como $O-CH_2-O-CH_2-$, W es O y todos de R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^{5*} son todos hidrógeno. En algunos modos de realización R^a es alquilo C_{1-6} tal como metilo. Dichos nucleósidos de LNA también son conocidos como nucleótidos COC y se divulgan en Mitsuoka et al., Nucleic Acids Research 2009 37(4), 1225-1238.

35 En el esquema 1 se presentan algunos ejemplos de nucleósidos de LNA.

Esquema 1



Como se ilustra en los ejemplos, en algunos modos de realización de la invención los nucleósidos de LNA en los oligonucleótidos son nucleósidos de beta-D-oxi-LNA.

5

Degradación mediada por nucleasas

La degradación mediada por nucleasas se refiere a un oligonucleótido capaz de mediar la degradación de una secuencia de nucleótidos complementaria cuando forma un dúplex con dicha secuencia.

10

En algunos modos de realización, el oligonucleótido puede funcionar por medio de la degradación mediada por nucleasas del ácido nucleico diana, donde los oligonucleótidos de la invención son capaces de reclutar una nucleasa, en particular y endonucleasa, preferentemente endorribonucleasa (RNasa), como RNasa H. Ejemplos de diseños de oligonucleótidos que operan por medio de mecanismos mediados por nucleasas son oligonucleótidos que típicamente comprenden una región de al menos 5 o 6 nucleósidos de ADN y están flanqueados en un lateral o en ambos laterales por nucleósidos potenciadores de la afinidad, por ejemplo gapmeros, oligómeros de cabeza y oligómeros de cola.

15

Actividad y reclutamiento de RNase H

La actividad de RNasa H de un oligonucleótido antisentido se refiere a su capacidad para reclutar RNasa H cuando

20

está en un dúplex con una molécula de ARN complementario. El documento WO01/23613 proporciona procedimientos *in vitro* para determinar la actividad de RNasaH, que se pueden usar para determinar la capacidad para reclutar RNasaH. Típicamente, se considera que un oligonucleótido es capaz de reclutar RNasa H si, cuando se le proporciona una secuencia de ácido nucleico diana complementario, tiene una tasa inicial, medida en pmol/l/min, de al menos un 5 %, tal como al menos un 10 % o más que un 20 % de la tasa inicial determinada cuando se usa un oligonucleótido que tiene la misma secuencia de bases que el oligonucleótido modificado que se está sometiendo a prueba, pero que contiene solo monómeros de ADN con enlaces de fosforotioato entre todos los monómeros en el oligonucleótido, y usando la metodología proporcionada por el ejemplo 91-95 del documento WO01/23613.

10 **Gapmero**

El término gapmero como se usa en el presente documento se refiere a un oligonucleótido antisentido que comprende una región de oligonucleótidos que reclutan RNasa H (hueco) que está flanqueada en 5' y 3' por regiones que comprenden uno o más nucleósidos modificados que potencian la afinidad (flancos o alas). En el presente documento se describen diversos diseños de gapmeros y se caracterizan por su capacidad para reclutar RNasa H. Los oligómeros de cabeza y los oligómeros de cola son oligonucleótidos capaces de reclutar RNasa H donde falta uno de los flancos, es decir, solo uno de los extremos del oligonucleótido comprende nucleósidos modificados que potencian la afinidad. Para los oligómeros de cabeza falta el flanco en 3' (es decir, el flanco en 5' comprende nucleósidos modificados que potencian la afinidad) y para los oligómeros de cola falta el flanco en 5' (es decir, el flanco en 3' comprende nucleósidos modificados que potencian la afinidad).

Gapmero de LNA

El término gapmero de LNA es un oligonucleótido gapmero en el que al menos uno de los nucleósidos modificados que potencian la afinidad es un nucleósido de LNA.

Gapmero con alas mixtas

El término gapmero con alas mixta o gapmero con flancos mixtos se refiere a un gapmero de LNA en el que al menos una de las regiones del flanco comprende al menos un nucleósido de LNA y al menos un nucleósido modificado distinto de LNA, tal como al menos un nucleósido modificado sustituido en 2', tal como, por ejemplo, nucleósido(s) de 2'-O-alquil-ARN, 2'-O-metil-ARN, 2'-alcoxi-ARN, 2'-O-metoxietil-ARN (MOE), 2'-amino-ADN, 2'-Fluoro-ARN y 2'-F-ANA. Como se describe en el presente documento, el gapmero con alas mixta tiene un flanco que comprende solo nucleósidos de LNA (por ejemplo, 5' o 3') y el otro flanco (3' o 5', respectivamente) comprende nucleósidos modificados sustituidos en 2' y opcionalmente nucleósidos de LNA.

Interruptor de huecos

El término "oligonucleótido interruptor de huecos" se usa en relación con un gapmero capaz de mantener el reclutamiento de RNasa H aunque la región de hueco se interrumpa por un nucleósido que no reclute RNasa H (un nucleósido interruptor de huecos, E) de modo que la región de hueco comprenda menos de 5 nucleósidos de ADN consecutivos. Los nucleósidos que no reclutan RNasa H son, por ejemplo, nucleósidos en la conformación endo 3', tal como los LNA, donde el puente entre C2' y C4' del anillo glucídico de ribosa de un nucleósido está en la conformación beta, tal como beta-D-oxi LNA o nucleósido ScET. La capacidad del oligonucleótido interruptor de huecos para reclutar RNasa H es típicamente específica de secuencia o incluso de compuesto específico - véase Rukov et al. 2015 Nucl. Acids Res. Vol. 43 págs. 8476-8487, que divulga oligonucleótidos "interruptores de huecos" que reclutan RNasaH que en algunos casos proporcionan una escisión más específica del ARN diana.

El oligonucleótido de la invención descrito en el presente documento puede ser un oligonucleótido interruptor de huecos. Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido interruptor de huecos puede comprender un flanco en 5' (F), un hueco (G) y un flanco en 3' (F'), en el que el hueco se interrumpe por un nucleósido que no recluta RNasaH (un nucleósido interruptor de huecos, E) de modo que el hueco contenga al menos 3 o 4 nucleósidos de ADN consecutivos. Como se describe en el presente documento, el nucleósido interruptor de huecos (E) puede ser un nucleósido de LNA donde el puente entre C2' y C4' del anillo glucídico de ribosa de un nucleósido está en la conformación beta y se coloca dentro de la región de hueco de modo que el nucleósido de LNA interruptor de huecos esté flanqueado en 5' y 3' por al menos 3 (5') y 3 (3') o al menos 3 (5') y 4 (3') o al menos 4 (5') y 3 (3') nucleósidos de ADN, y en el que el oligonucleótido es capaz de reclutar RNasaH.

El oligonucleótido interruptor de huecos se puede representar mediante las siguientes fórmulas:

F-G-E-G-F'; en particular F₁₋₇-G₃₋₄-E₁-G₃₋₄-F'₁₋₇
 D'-F-G-F', en particular D'₁₋₃-F₁₋₇-G₃₋₄-E₁-G₃₋₄-F'₁₋₇
 F-G-F'-D'', en particular F₁₋₇-G₃₋₄-E₁-G₃₋₄-F'₁₋₇-D''₁₋₃
 D'-F-G-F'-D'', en particular D'₁₋₃-F₁₋₇-G₃₋₄-E₁-G₃₋₄-F'₁₋₇-D''₁₋₃

Donde la región D' y D'' son como se describe en la sección "Diseño de gapmeros".

Como se describe en el presente documento, el nucleósido interruptor de huecos (E) es un beta-D-oxi LNA o ScET u otros nucleósidos beta-LNA mostrados en el esquema 1).

5 **Conjugado**

El término conjugado como se usa en el presente documento se refiere a un oligonucleótido que está unido covalentemente a un resto no nucleotídico (resto de conjugado o región C o tercera región), también denominado conjugado de oligonucleótidos.

10 La conjugación de los oligonucleótidos de la invención con uno o más restos no nucleotídicos puede mejorar la farmacología del oligonucleótido, por ejemplo, afectando a la actividad, distribución celular, captación celular o estabilidad del oligonucleótido. En algunos modos de realización, el resto de conjugado dirige el oligonucleótido al hígado. Al mismo tiempo, el conjugado sirve para reducir la actividad del oligonucleótido en tipos de células, tejidos u órganos no diana, por ejemplo, actividad colateral o actividad en tipos de células, tejidos u órganos no diana. En un modo de realización de la invención, el conjugado de oligonucleótidos de la invención muestra una inhibición mejorada de PD-L1 en la célula diana en comparación con un oligonucleótido no conjugado. En otro modo de realización, el conjugado de oligonucleótidos de la invención tiene una distribución celular mejorada entre el hígado y otros órganos, tales como el bazo o el riñón (es decir, más oligonucleótidos conjugados van al hígado que al bazo o al riñón) en comparación con un oligonucleótido no conjugado. En otro modo de realización, el conjugado de oligonucleótidos de la invención muestra una captación celular mejorada en el hígado del oligonucleótido del conjugado en comparación con un oligonucleótido no conjugado.

25 Los documentos WO93/07883 y WO2013/033230 proporcionan restos de conjugados adecuados. Otros restos de conjugados adecuados son aquellos capaces de unirse al receptor para la asialoglicoproteína (ASGPr). En particular, los restos de conjugados de N-acetilgalactosamina trivalentes son adecuados para su unión al ASGPr; véase, por ejemplo, los documentos WO2014/076196, WO2014/207232 y WO2014/179620. El resto de conjugado es esencialmente la parte de los conjugados de oligonucleótidos antisentido que no está compuesta de ácidos nucleicos.

30 Los conjugados de oligonucleótidos y su síntesis también se han informado en revisiones exhaustivas de Manoharan en *Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications*, S.T. Crooke, ed., Cap. 16, Marcel Dekker, Inc., 2001 y Manoharan, *Antisense and Nucleic Acid Drug Development*, 2002, 12, 103.

35 En un modo de realización, el resto no nucleotídico (resto de conjugado) se selecciona del grupo que consiste en carbohidratos, ligandos de receptores de superficie celular, sustancias farmacéuticas, hormonas, sustancias lipófilas, polímeros, proteínas, péptidos, toxinas (por ejemplo, toxinas bacterianas), vitaminas, proteínas víricas (por ejemplo, cápsides) o combinaciones de los mismos.

40 **Conectores**

Un enlace o conector es una conexión entre dos átomos que enlaza un grupo químico o segmento de interés con otro grupo químico o segmento de interés por medio de uno o más enlaces covalentes. Se pueden unir restos de conjugados al oligonucleótido directamente o a través un resto enlazador (por ejemplo, conector o amarre). Los conectores sirven para conectar covalentemente una tercera región, por ejemplo, un resto de conjugado (Región C), a una primera región, por ejemplo, un oligonucleótido o secuencia de nucleótidos contigua complementaria al ácido nucleico diana (región A).

50 En algunos modos de realización de la invención, el conjugado o conjugado de oligonucleótidos de la invención puede comprender, opcionalmente, una región conectora (segunda región o región B y/o región Y) que se sitúa entre el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contigua complementaria al ácido nucleico diana (región A o primera región) y el resto de conjugado (región C o tercera región).

La región B se refiere a conectores bioescindibles que comprenden o consisten en un enlace fisiológicamente lábil que se puede escindir en las condiciones normalmente encontradas o análogas a las encontradas dentro del cuerpo de un mamífero. Las condiciones en las cuales los conectores fisiológicamente lábiles experimentan una transformación química (por ejemplo, escisión) incluyen condiciones químicas tales como pH, temperatura, condiciones o agentes oxidantes o reductores, y concentración de sal encontrada o análoga a las encontradas en células de mamífero. Las afecciones intracelulares de mamíferos también incluyen la presencia de la actividad enzimática normalmente presente en una célula de mamífero tal como de enzimas proteolíticas o enzimas hidrolíticas o nucleasas. En un modo de realización, el conector bioescindible es susceptible de escisión por la nucleasa S1. En un modo de realización preferente, el conector susceptible a nucleasas comprende entre 1 y 10 nucleósidos, tales como 1,2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleósidos, más preferentemente entre 2 y 6 nucleósidos y lo más preferentemente entre 2 y 4 nucleósidos enlazados que comprenden al menos dos enlaces fosfodiéster consecutivos, tales como al menos 3 o 4 o 5 enlaces fosfodiéster consecutivos. Preferentemente, los nucleósidos son ADN o ARN. Los conectores bioescindibles que contienen fosfodiéster se describen con más detalle en el documento WO2014/076195.

La región Y se refiere a conectores que no son necesariamente bioescindibles sino que sirven principalmente para conectar covalentemente un resto de conjugado (región C o tercera región), a un oligonucleótido o secuencia de nucleótidos contigua complementaria al ácido nucleico diana (región A o primera región). Los conectores de la región Y pueden comprender una estructura de cadena o un oligómero de unidades repetidas tales como etilenglicol, unidades de aminoácidos o grupos aminoalquilo. Los conjugados de oligonucleótidos de la presente invención se pueden construir con los siguientes elementos regionales A-C, A-B-C, A-B-Y-C, A-Y-B-C o A-Y-C. En algunos modos de realización, el conector (región Y) es un amino alquilo, tal como un grupo amino alquilo C2-C36, que incluye, por ejemplo, grupos amino alquilo C6 a C12. En un modo de realización preferente, el conector (región Y) es un grupo amino alquilo C6.

Tratamiento

El término "tratamiento" como se usa en el presente documento se refiere tanto al tratamiento de una enfermedad existente (por ejemplo, una enfermedad o trastorno como al que se hace referencia en el presente documento), como a la prevención de una enfermedad, es decir, profilaxis. Por lo tanto, se reconocerá que el tratamiento como al que se hace referencia en el presente documento puede, en algunos modos de realización, ser profiláctico.

Restablecimiento de la respuesta inmunitaria frente a patógenos.

La respuesta inmunitaria se divide en respuesta inmunitaria innata y adaptativa. El sistema inmunitario innato proporciona una respuesta inmediata, pero no específica. La respuesta inmunitaria adaptativa es activada por una respuesta inmunitaria innata y es altamente específica para un patógeno en particular. Tras la presentación de un antígeno derivado de un patógeno en la superficie de las células presentadoras de antígeno, las células inmunitarias de la respuesta inmunitaria adaptativa (es decir, los linfocitos T y B) se activan a través de sus receptores específicos de antígenos, lo que da lugar a una respuesta inmunitaria patógena específica y al desarrollo de una memoria inmunológica. Las infecciones víricas crónicas, tales como las causadas por el VHB y el VHC, se asocian con el agotamiento de los linfocitos T caracterizado por la falta de respuesta de los linfocitos T específicos del virus. El agotamiento de los linfocitos T está bien estudiado; para una revisión, véase, por ejemplo, Yi et al 2010 Immunology129, 474-481. Las infecciones víricas crónicas también se asocian con una función reducida de los linfocitos NK que son células inmunitarias innatas. Potenciar la respuesta inmunitaria vírica es importante para la eliminación de la infección crónica. El restablecimiento de la respuesta inmunitaria frente a patógenos, mediada por linfocitos T y linfocitos NK, se puede evaluar mediante la medición de la proliferación, la secreción de citocinas y la función citolítica (Dolina et al. 2013 Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2 e72 y ejemplo 6 en el presente documento).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al uso de oligonucleótidos antisentido y conjugados de los mismos y composiciones farmacéuticas que los comprenden para restablecer la respuesta inmunitaria frente a patógenos que han infectado a un animal, en particular a un ser humano. Los conjugados de oligonucleótidos antisentido de la presente invención son útiles en particular contra patógenos que han infectado el hígado, en particular infecciones hepáticas crónicas como la causada por el VHB. Los conjugados permiten la distribución dirigida de los oligonucleótidos y evitan la atenuación sistémica del ácido nucleico diana.

Los oligonucleótidos de la invención

La invención se refiere a oligonucleótidos capaces de modular la expresión de PD-L1. La modulación se puede lograr mediante hibridación con un ácido nucleico diana que codifica PD-L1 o que está implicado en la regulación de PD-L1. El ácido nucleico diana puede ser una secuencia de PD-L1 de mamífero, tal como una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y/o SEQ ID NO: 3. El ácido nucleico diana puede ser un preARNm, un ARNm o cualquier secuencia de ARN expresada a partir de una célula de mamífero que soporta la expresión o regulación de PD-L1.

El oligonucleótido de la invención es un oligonucleótido antisentido que se dirige a PD-L1.

En un aspecto de la invención, el oligonucleótido de la invención se conjuga con un resto de conjugado, en particular un resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína.

En algunos modos de realización, el oligonucleótido antisentido de la invención es capaz de modular la expresión de la diana inhibiéndola o regulándola por disminución. Preferentemente, dicha modulación produce una inhibición de la expresión de al menos un 20 % en comparación con el nivel de expresión normal de la diana, más preferentemente al menos un 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % de inhibición en comparación con el nivel de expresión normal de la diana. Preferentemente, dicha modulación produce una inhibición de la expresión de al menos un 20 % en comparación con el nivel de expresión cuando la célula u organismo es objeto de provocación por un agente infeccioso, o se trata con un agente que simula la provocación por un agente infeccioso (por ejemplo, poli I:C o LPS), más preferentemente al menos un 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % de inhibición en comparación con el nivel de expresión cuando la célula u organismo es objeto de provocación por un agente infeccioso o se trata con un agente

que simula la provocación por un agente infeccioso (por ejemplo, poli I:C o LPS). En algunos modos de realización, el oligonucleótido de la invención puede ser capaz de inhibir los niveles de expresión de ARNm de PD-L1 en al menos un 60 % o un 70 % in vitro usando células KARPAS-299 o THP1. En algunos modos de realización, los compuestos de la invención pueden ser capaces de inhibir los niveles de expresión de la proteína PD-L1 en al menos un 50 % in vitro usando células KARPAS-299 o THP1. De forma adecuada, los ejemplos proporcionan ensayos que se pueden usar para medir el ARN de PD-L1 (por ejemplo, ejemplo 1). La modulación de la diana se desencadena por la hibridación entre una secuencia de nucleótidos contigua del oligonucleótido y el ácido nucleico diana. En algunos modos de realización, el oligonucleótido de la invención comprende emparejamientos erróneos entre el oligonucleótido y el ácido nucleico diana. A pesar de los emparejamientos erróneos, la hibridación con el ácido nucleico diana todavía puede ser suficiente para mostrar una modulación deseada de la expresión de PD-L1. La afinidad de unión reducida resultante de los emparejamientos erróneos se puede compensar de forma ventajosa mediante un número incrementado de nucleótidos en el oligonucleótido y/o un número incrementado de nucleósidos modificados capaces de incrementar la afinidad de unión a la diana, tales como los nucleósidos modificados en 2', incluido el LNA, presentes dentro de la secuencia de oligonucleótidos.

En algunos modos de realización, el oligonucleótido antisentido de la invención es capaz de restablecer linfocitos T específicos de patógenos. En algunos modos de realización, el oligonucleótido de la invención es capaz de incrementar los linfocitos T específicos de patógenos en al menos un 40 %, 50 %, 60 % o 70 % en comparación con los controles no tratados o los controles tratados con el tratamiento de referencia. En un modo de realización, el oligonucleótido antisentido o conjugado de la invención es capaz de incrementar los linfocitos T específicas del VHB cuando se compara con controles no tratados o controles tratados con el tratamiento de referencia. De forma adecuada, los ejemplos proporcionan ensayos que se pueden usar para medir los linfocitos T específicos del VHB (por ejemplo, proliferación de linfocitos T, secreción de citocinas y actividad citolítica). En otro modo de realización, el oligonucleótido antisentido o conjugado de la invención es capaz de incrementar los linfocitos T específicas del VHC cuando se compara con controles no tratados o controles tratados con el tratamiento de referencia. En otro modo de realización, el oligonucleótido antisentido o conjugado de la invención es capaz de incrementar los linfocitos T específicas del VHD cuando se compara con controles no tratados o controles tratados con el tratamiento de referencia.

En algunos modos de realización, el oligonucleótido antisentido de la invención es capaz de reducir los niveles de HBsAg en un animal o un ser humano. En algunos modos de realización, el oligonucleótido de la invención es capaz de reducir los niveles de HBsAg en al menos un 40 %, 50 %, 60 % o 70 %, más preferentemente en al menos un 80 %, 90 % o 95 % en comparación con el nivel anterior al tratamiento. Lo más preferentemente, los oligonucleótidos de la invención son capaces de lograr la seroconversión del HBsAg en un animal o un humano infectado por el VHB.

En el presente documento se describe un oligonucleótido antisentido que comprende una secuencia de nucleótidos contigua de 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de complementariedad con un ácido nucleico diana de PD-L1.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende una secuencia contigua que es al menos un 90 % complementaria, tal como al menos un 91 %, tal como al menos un 92 %, tal como al menos un 93 %, tal como al menos un 94 %, tal como al menos un 95 %, tal como al menos un 96 %, tal como al menos un 97 %, tal como al menos un 98 %, o un 100 % complementaria con una región del ácido nucleico diana.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido de la invención, o la secuencia de nucleótidos contigua del mismo, es completamente complementario (100 % complementario) a una región del ácido nucleico diana, o en algunos modos de realización puede comprender uno o dos emparejamientos erróneos entre el oligonucleótido y el ácido nucleico diana.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende una secuencia de nucleótidos contigua de 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de complementariedad, tal como completamente (o un 100 %) complementaria, con una región de ácido nucleico diana de la región presente en la SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2. Como se describe en el presente documento, la secuencia de oligonucleótidos es un 100 % complementaria a una región de ácido nucleico diana correspondiente presente SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2. Como se describe en el presente documento, la secuencia de oligonucleótidos es un 100 % complementaria a una región de ácido nucleico diana correspondiente presente SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 3.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido o conjugado de oligonucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos contigua de 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de complementariedad, tal como un 100 % de complementariedad, con una región de ácido nucleico diana correspondiente en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una subsecuencia del ácido nucleico diana seleccionado del grupo que consiste en la posición 371-3068, 5467-12107 y 15317-19511 en la SEQ ID NO: 1. Como se describe en el presente documento, la subsecuencia del ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en la posición 371-510, 822-1090, 1992-3068, 5467-5606, 6470-12107, 15317-15720, 15317-18083, 18881-19494 y 1881-19494 en la SEQ ID NO: 1. Como se describe en el presente documento, la subsecuencia del ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en la posición 7300-7333, 8028-8072, 9812-9859, 11787-11873 y 15690-15735 en la SEQ ID NO: 1.

ES 2 857 702 T3

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido o conjugado de oligonucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos contigua de 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de complementariedad, tal como un 100 % de complementariedad, con una región de ácido nucleico diana correspondiente presente en la SEQ ID NO: 1, en la que la región de ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en la región a1 a a449 en la tabla 4.

5

Tabla 4: Regiones de la SEQ ID NO 1 contra las que es posible dirigirse usando oligonucleótidos como se describe en el presente documento

10

Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud
	de	a			de	a			de	a	
a1	51	82	32	a151	6994	7020	27	a301	13092	13115	24
a2	87	116	30	a152	7033	7048	16	a302	13117	13134	18
a3	118	133	16	a153	7050	7066	17	a303	13136	13169	34
a4	173	206	34	a154	7078	7094	17	a304	13229	13249	21
a5	221	287	67	a155	7106	7122	17	a305	13295	13328	34
a6	304	350	47	a156	7123	7144	22	a306	13330	13372	43
a7	354	387	34	a157	7146	7166	21	a307	13388	13406	19
a8	389	423	35	a158	7173	7193	21	a308	13408	13426	19
a9	425	440	16	a159	7233	7291	59	a309	13437	13453	17
a10	452	468	17	a160	7300	7333	34	a310	13455	13471	17
a11	470	484	15	a161	7336	7351	16	a311	13518	13547	30
a12	486	500	15	a162	7353	7373	21	a312	13565	13597	33
a13	503	529	27	a163	7375	7412	38	a313	13603	13620	18
a14	540	574	35	a164	7414	7429	16	a314	13630	13663	34
a15	576	649	74	a165	7431	7451	21	a315	13665	13679	15
a16	652	698	47	a166	7453	7472	20	a316	13706	13725	20
a17	700	750	51	a167	7474	7497	24	a317	13727	13774	48
a18	744	758	15	a168	7517	7532	16	a318	13784	13821	38
a19	774	801	28	a169	7547	7601	55	a319	13831	13878	48
a20	805	820	16	a170	7603	7617	15	a320	13881	13940	60
a21	827	891	65	a171	7632	7647	16	a321	13959	14013	55
a22	915	943	29	a172	7649	7666	18	a322	14015	14031	17
a23	950	982	33	a173	7668	7729	62	a323	14034	14049	16
a24	984	1000	17	a174	7731	7764	34	a324	14064	14114	51
a25	1002	1054	53	a175	7767	7817	51	a325	14116	14226	111
a26	1060	1118	59	a176	7838	7860	23	a326	14229	14276	48
a27	1124	1205	82	a177	7862	7876	15	a327	14292	14306	15
a28	1207	1255	49	a178	7880	7944	65	a328	14313	14384	72
a29	1334	1349	16	a179	7964	8012	49	a329	14386	14408	23
a30	1399	1425	27	a180	8028	8072	45	a330	14462	14481	20
a31	1437	1458	22	a181	8086	8100	15	a331	14494	14519	26

ES 2 857 702 T3

Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud
	de	a			de	a			de	a	
a32	1460	1504	45	a182	8102	8123	22	a332	14557	14577	21
a33	1548	1567	20	a183	8125	8149	25	a333	14608	14628	21
a34	1569	1586	18	a184	8151	8199	49	a334	14646	14668	23
a35	1608	1662	55	a185	8218	8235	18	a335	14680	14767	88
a36	1677	1700	24	a186	8237	8276	40	a336	14765	14779	15
a37	1702	1721	20	a187	8299	8344	46	a337	14815	14844	30
a38	1723	1745	23	a188	8346	8436	91	a338	14848	14925	78
a39	1768	1794	27	a189	8438	8470	33	a339	14934	14976	43
a40	1820	1835	16	a190	8472	8499	28	a340	14978	15009	32
a41	1842	1874	33	a191	8505	8529	25	a341	15013	15057	45
a42	1889	1979	91	a192	8538	8559	22	a342	15064	15091	28
a43	1991	2011	21	a193	8562	8579	18	a343	15094	15140	47
a44	2013	2038	26	a194	8581	8685	105	a344	15149	15165	17
a45	2044	2073	30	a195	8688	8729	42	a345	15162	15182	21
a46	2075	2155	81	a196	8730	8751	22	a346	15184	15198	15
a47	2205	2228	24	a197	8777	8800	24	a347	15200	15221	22
a48	2253	2273	21	a198	8825	8865	41	a348	15232	15247	16
a49	2275	2303	29	a199	8862	8894	33	a349	15250	15271	22
a50	2302	2333	32	a200	8896	8911	16	a350	15290	15334	45
a51	2335	2366	32	a201	8938	8982	45	a351	15336	15369	34
a52	2368	2392	25	a202	8996	9045	50	a352	15394	15416	23
a53	2394	2431	38	a203	9048	9070	23	a353	15433	15451	19
a54	2441	2455	15	a204	9072	9139	68	a354	15453	15491	39
a55	2457	2494	38	a205	9150	9168	19	a355	15496	15511	16
a56	2531	2579	49	a206	9170	9186	17	a356	15520	15553	34
a57	2711	2732	22	a207	9188	9202	15	a357	15555	15626	72
a58	2734	2757	24	a208	9204	9236	33	a358	15634	15652	19
a59	2772	2786	15	a209	9252	9283	32	a359	15655	15688	34
a60	2788	2819	32	a210	9300	9331	32	a360	15690	15735	46
a61	2835	2851	17	a211	9339	9354	16	a361	15734	15764	31
a62	2851	2879	29	a212	9370	9398	29	a362	15766	15787	22
a63	2896	2912	17	a213	9400	9488	89	a363	15803	15819	17
a64	2915	2940	26	a214	9490	9537	48	a364	15846	15899	54
a65	2944	2973	30	a215	9611	9695	85	a365	15901	15934	34
a66	2973	2992	20	a216	9706	9721	16	a366	15936	15962	27
a67	2998	3016	19	a217	9723	9746	24	a367	15964	15985	22
a68	3018	3033	16	a218	9748	9765	18	a368	15987	16023	37

ES 2 857 702 T3

Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud
	de	a			de	a			de	a	
a69	3036	3051	16	a219	9767	9788	22	a369	16025	16061	37
a70	3114	3139	26	a220	9794	9808	15	a370	16102	16122	21
a71	3152	3173	22	a221	9812	9859	48	a371	16134	16183	50
a72	3181	3203	23	a222	9880	9913	34	a372	16185	16281	97
a73	3250	3271	22	a223	9923	9955	33	a373	16283	16298	16
a74	3305	3335	31	a224	9966	10007	42	a374	16305	16323	19
a75	3346	3363	18	a225	10009	10051	43	a375	16325	16356	32
a76	3391	3446	56	a226	10053	10088	36	a376	16362	16404	43
a77	3448	3470	23	a227	10098	10119	22	a377	16406	16456	51
a78	3479	3497	19	a228	10133	10163	31	a378	16494	16523	30
a79	3538	3554	17	a229	10214	10240	27	a379	16536	16562	27
a80	3576	3597	22	a230	10257	10272	16	a380	16564	16580	17
a81	3603	3639	37	a231	10281	10298	18	a381	16582	16637	56
a82	3663	3679	17	a232	10300	10318	19	a382	16631	16649	19
a83	3727	3812	86	a233	10339	10363	25	a383	16655	16701	47
a84	3843	3869	27	a234	10409	10426	18	a384	16737	16781	45
a85	3874	3904	31	a235	10447	10497	51	a385	16783	16804	22
a86	3926	3955	30	a236	10499	10529	31	a386	16832	16907	76
a87	3974	3993	20	a237	10531	10546	16	a387	16934	16965	32
a88	3995	4042	48	a238	10560	10580	21	a388	16972	17035	64
a89	4053	4073	21	a239	10582	10596	15	a389	17039	17069	31
a90	4075	4123	49	a240	10600	10621	22	a390	17072	17109	38
a91	4133	4157	25	a241	10623	10664	42	a391	17135	17150	16
a92	4158	4188	31	a242	10666	10685	20	a392	17167	17209	43
a93	4218	4250	33	a243	10717	10773	57	a393	17211	17242	32
a94	4277	4336	60	a244	10775	10792	18	a394	17244	17299	56
a95	4353	4375	23	a245	10794	10858	65	a395	17304	17344	41
a96	4383	4398	16	a246	10874	10888	15	a396	17346	17400	55
a97	4405	4446	42	a247	10893	10972	80	a397	17447	17466	20
a98	4448	4464	17	a248	10974	10994	21	a398	17474	17539	66
a99	4466	4493	28	a249	10996	11012	17	a399	17561	17604	44
a100	4495	4558	64	a250	11075	11097	23	a400	17610	17663	54
a101	4571	4613	43	a251	11099	11124	26	a401	17681	17763	83
a102	4624	4683	60	a252	11140	11157	18	a402	17793	17810	18
a103	4743	4759	17	a253	11159	11192	34	a403	17812	17852	41
a104	4761	4785	25	a254	11195	11226	32	a404	17854	17928	75
a105	4811	4858	48	a255	11235	11261	27	a405	17941	18005	65

ES 2 857 702 T3

Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud
	de	a			de	a			de	a	
a106	4873	4932	60	a256	11279	11337	59	a406	18007	18035	29
a107	4934	4948	15	a257	11344	11381	38	a407	18041	18077	37
a108	4955	4974	20	a258	11387	11411	25	a408	18085	18146	62
a109	4979	5010	32	a259	11427	11494	68	a409	18163	18177	15
a110	5012	5052	41	a260	11496	11510	15	a410	18179	18207	29
a111	5055	5115	61	a261	11512	11526	15	a411	18209	18228	20
a112	5138	5166	29	a262	11528	11551	24	a412	18230	18266	37
a113	5168	5198	31	a263	11570	11592	23	a413	18268	18285	18
a114	5200	5222	23	a264	11594	11634	41	a414	18287	18351	65
a115	5224	5284	61	a265	11664	11684	21	a415	18365	18395	31
a116	5286	5302	17	a266	11699	11719	21	a416	18402	18432	31
a117	5317	5332	16	a267	11721	11746	26	a417	18434	18456	23
a118	5349	5436	88	a268	11753	11771	19	a418	18502	18530	29
a119	5460	5512	53	a269	11787	11873	87	a419	18545	18590	46
a120	5514	5534	21	a270	11873	11905	33	a420	18603	18621	19
a121	5548	5563	16	a271	11927	11942	16	a421	18623	18645	23
a122	5565	5579	15	a272	11946	11973	28	a422	18651	18708	58
a123	5581	5597	17	a273	11975	11993	19	a423	18710	18729	20
a124	5600	5639	40	a274	12019	12114	96	a424	18731	18758	28
a125	5644	5661	18	a275	12116	12135	20	a425	18760	18788	29
a126	5663	5735	73	a276	12137	12158	22	a426	18799	18859	61
a127	5737	5770	34	a277	12165	12192	28	a427	18861	18926	66
a128	5778	5801	24	a278	12194	12216	23	a428	18928	18980	53
a129	5852	5958	107	a279	12218	12246	29	a429	19001	19018	18
a130	6007	6041	35	a280	12262	12277	16	a430	19034	19054	21
a131	6049	6063	15	a281	12283	12319	37	a431	19070	19092	23
a132	6065	6084	20	a282	12334	12368	35	a432	19111	19154	44
a133	6086	6101	16	a283	12370	12395	26	a433	19191	19213	23
a134	6119	6186	68	a284	12397	12434	38	a434	19215	19240	26
a135	6189	6234	46	a285	12436	12509	74	a435	19255	19356	102
a136	6236	6278	43	a286	12511	12543	33	a436	19358	19446	89
a137	6291	6312	22	a287	12545	12565	21	a437	19450	19468	19
a138	6314	6373	60	a288	12567	12675	109	a438	19470	19512	43
a139	6404	6447	44	a289	12677	12706	30	a439	19514	19541	28
a140	6449	6482	34	a290	12708	12724	17	a440	19543	19568	26
a141	6533	6555	23	a291	12753	12768	16	a441	19570	19586	17
a142	6562	6622	61	a292	12785	12809	25	a442	19588	19619	32

Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud	Reg. a	Posición en SEQ ID NO 1		Longitud
	de	a			de	a			de	a	
a143	6624	6674	51	a293	12830	12859	30	a443	19683	19739	57
a144	6679	6762	84	a294	12864	12885	22	a444	19741	19777	37
a145	6764	6780	17	a295	12886	12916	31	a445	19779	19820	42
a146	6782	6822	41	a296	12922	12946	25	a446	19822	19836	15
a147	6824	6856	33	a297	12948	12970	23	a447	19838	19911	74
a148	6858	6898	41	a298	12983	13003	21	a448	19913	19966	54
a149	6906	6954	49	a299	13018	13051	34	a449	19968	20026	59
a150	6969	6992	24	a300	13070	13090	21				

5 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una región del ácido nucleico diana, en el que la región de ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en a7, a26, a43, a119, a142, a159, a160, a163, a169, a178, a179, a180, a189, a201, a202, a204, a214, a221, a224, a226, a243, a254, a258, 269, a274, a350, a360, a364, a365, a370, a372, a381, a383, a386, a389, a400, a427, a435 y a438.

10 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una región del ácido nucleico diana, en el que la región de ácido nucleico diana se selecciona del grupo que consiste en a160, a180, a221, a269 y a360.

15 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido de la invención comprende o consiste en 8 a 35 nucleótidos de longitud, tales como de 9 a 30, tales como de 10 a 22, tales como de 11 a 20, tales como de 12 a 18, tales como de 13 a 17 o de 14 a 16 nucleótidos contiguos de longitud. Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende o consiste en 16 a 20 nucleótidos de longitud. Se debe entender que cualquier intervalo dado en el presente documento incluye los puntos finales del intervalo. En consecuencia, si se dice que un oligonucleótido incluye de 10 a 30 nucleótidos, se incluyen tanto 10 como 30 nucleótidos.

20 Como se describe en el presente documento, la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos de longitud. Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende o consiste en 16, 17, 18, 19 o 20 nucleótidos de longitud.

25 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias enumeradas en la tabla 5.

30 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de identidad, preferentemente un 100 % de identidad, con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 5 a 743 (véase las secuencias de motivos enumeradas en la tabla 5).

35 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de identidad, preferentemente un 100 % de identidad, con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 5 a 743 y 771.

40 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de identidad, preferentemente un 100 % de identidad, con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 6, 8, 9, 13, 41, 42, 58, 77, 92, 111, 128, 151, 164, 166, 169, 171, 222, 233, 245, 246, 250, 251, 252, 256, 272, 273, 287, 292, 303, 314, 318, 320, 324, 336, 342, 343, 344, 345, 346, 349, 359, 360, 374, 408, 409, 415, 417, 424, 429, 430, 458, 464, 466, 474, 490, 493, 512, 519, 519, 529, 533, 534, 547, 566, 567, 578, 582, 601.619, 620, 636, 637, 638, 640, 645, 650, 651, 652, 653, 658, 659, 660, 665, 678, 679, 680, 682, 683, 684, 687, 694, 706, 716, 728, 733, 734 y 735.

45 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de identidad, preferentemente un 100 % de identidad, con la SEQ ID NO: 287.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de identidad, preferentemente un 100 % de identidad, con la SEQ ID NO: 342.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de identidad, preferentemente un 100 % de identidad, con la SEQ ID NO: 640.

5 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de identidad, preferentemente un 100 % de identidad, con la SEQ ID NO: 466.

10 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido antisentido o la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de identidad, preferentemente un 100 % de identidad, con la SEQ ID NO: 566.

15 Como se describe en el presente documento, donde el oligonucleótido es más largo que la secuencia de nucleótidos contigua (que es complementaria al ácido nucleico diana), las secuencias de motivos en la tabla 5 forman la parte de la secuencia de nucleótidos contigua de los oligonucleótidos antisentido de la invención. Como se describe en el presente documento, la secuencia del oligonucleótido es equivalente a la secuencia de nucleótidos contigua (por ejemplo, si no se añaden conectores bioescindibles).

20 Se entiende que las secuencias de nucleobases contiguas (secuencia de motivos) se pueden modificar para, por ejemplo, incrementar la resistencia a las nucleasas y/o la afinidad de unión por el ácido nucleico diana. Las modificaciones se describen en las definiciones y en la sección "Diseño de oligonucleótidos". La tabla 5 enumera los diseños preferentes de cada secuencia de motivos.

25 **Diseño de oligonucleótidos**

El diseño de oligonucleótidos se refiere al patrón de modificaciones con glúcidos de los nucleósidos en la secuencia de oligonucleótidos. Los oligonucleótidos como se describen en el presente documento comprenden nucleósidos modificados con glúcidos y también pueden comprender nucleósidos de ADN o ARN. En algunos modos de realización, el oligonucleótido descrito en el presente documento comprende nucleósidos modificados con glúcidos y nucleósidos de ADN. La incorporación de nucleósidos modificados en el oligonucleótido descrito en el presente documento puede potenciar la afinidad del oligonucleótido por el ácido nucleico diana. En ese caso, los nucleósidos modificados se pueden denominar nucleótidos modificados potenciadores de la afinidad, los nucleósidos modificados también se pueden denominar unidades.

35 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende al menos 1 nucleósido modificado, tal como al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15 o al menos 16 nucleósidos modificados. Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende de 1 a 10 nucleósidos modificados, tales como de 2 a 8 nucleósidos modificados, tales como de 3 a 7 nucleósidos modificados, tales como de 4 a 6 nucleósidos modificados, tales como 3, 4, 5, 6 o 7 nucleósidos modificados.

40 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende uno o más nucleósidos modificados con glúcidos, tales como nucleósidos modificados con glúcidos en 2'. Preferentemente, el oligonucleótido descrito en el presente documento comprende uno o más nucleósidos modificados con glúcidos en 2' seleccionados independientemente del grupo que consiste en nucleósidos de 2'-O-alkil-ARN, 2'-O-metil-ARN, 2'-alcoxi-ARN, 2'-O-metoxietil-ARN, 2'-amino-ADN, 2'-fluoro-ADN, ácido arabinonucleico (ANA), 2'-fluoro-ANA y LNA. Incluso más preferentemente, el uno o más nucleósidos modificados es un ácido nucleico bloqueado (LNA).

45 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende al menos un enlace internucleosídico modificado. Como se describe en el presente documento, todos los enlaces internucleosídicos dentro de la secuencia de nucleótidos contigua son enlaces internucleosídicos fosforotioato o boranofosfato. En algunos modos de realización, todos los enlaces internucleosídicos en la secuencia contigua del oligonucleótido son enlaces fosforotioato.

50 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido de la invención comprende al menos un nucleósido de LNA, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 nucleósidos de LNA, tales como de 2 a 6 nucleósidos de LNA, tales como de 3 a 7 nucleósidos de LNA, de 4 a 6 nucleósidos de LNA o 3, 4, 5, 6 o 7 nucleósidos de LNA. Como se describe en el presente documento, al menos un 75 % de los nucleósidos modificados en el oligonucleótido son nucleósidos de LNA, tal como un 80 %, tal como un 85 %, tal como un 90 % de los nucleósidos modificados son nucleósidos de LNA. Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos modificados en el oligonucleótido son nucleósidos de LNA. Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido puede comprender tanto beta-D-oxi-LNA como uno o más de los siguientes nucleósidos de LNA: tio-LNA, amino-LNA, oxi-LNA y/o ENA en las configuraciones beta-D o bien alfa-L o combinaciones de las mismas. En otro modo de realización, todas las unidades de citosina del LNA son 5-metil-citosina. Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contigua tiene al menos 1 nucleósido de LNA en el extremo 5' y al menos 2 nucleósidos de LNA en el extremo 3' de la secuencia de nucleótidos.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido de la invención comprende al menos un nucleósido modificado que es un nucleósido de 2'-MOE-ARN, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleósidos de 2'-MOE-ARN. Como se describe en el presente documento, al menos uno de dichos nucleósidos modificados es 2'-fluoro ADN, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleósidos de 2'-fluoro-ADN.

El oligonucleótido como se describe en el presente documento comprende al menos un nucleósido de LNA y al menos un nucleósido modificado sustituido en 2'.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende tanto nucleósidos modificados con glúcidos en 2' como unidades de ADN. Preferentemente, el oligonucleótido comprende nucleósidos (unidades) tanto de LNA como de ADN. Preferentemente, el total combinado de unidades de ADN y LNA es 8-30, tal como 10-25, preferentemente 12-22, tal como 12-18, incluso más preferentemente 11-16. Como se describe en el presente documento, la secuencia de nucleótidos del oligonucleótido, tal como la secuencia de nucleótidos contigua, consiste en al menos uno o dos nucleósidos de LNA y los nucleósidos restantes son unidades de ADN. Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido comprende solo nucleósidos de LNA y nucleósidos naturales (tales como ARN o ADN, más preferentemente nucleósidos de ADN), opcionalmente con enlaces internucleosídicos modificados tales como fosforotioato.

En un modo de realización de la invención, el oligonucleótido de la invención es capaz de reclutar RNasa H.

El diseño estructural del oligonucleótido como se describe en el presente documento se puede seleccionar de gapmeros, interruptores de huecos, oligómeros de cabeza y oligómeros de cola.

Diseño de gapmeros

En un modo de realización preferente, el oligonucleótido de la invención tiene un diseño o estructura de gapmero también denominado en el presente documento simplemente "gapmero". En una estructura de gapmero, el oligonucleótido comprende al menos tres regiones estructurales distintas: un flanco en 5', un hueco y un flanco en 3', F-G-F' en orientación '5 -> 3'. En este diseño, las regiones flanqueantes F y F' (también denominadas regiones de alas) comprenden un tramo contiguo de nucleósidos modificados, que son complementarios al ácido nucleico diana de PD-L1, mientras que la región de hueco, G, comprende un tramo contiguo de nucleótidos que son capaces de reclutar una nucleasa, preferentemente una endonucleasa tal como RNasa, por ejemplo RNasa H, cuando el oligonucleótido está en dúplex con el ácido nucleico diana. Los nucleósidos que son capaces de reclutar una nucleasa, en particular RNasa H, se pueden seleccionar del grupo que consiste en ADN, alfa-L-oxi-LNA, 2'-Flouro-ANA y UNA. Las regiones F y F', que flanquean los extremos 5' y 3' de la región G, comprenden preferentemente nucleósidos que no reclutan nucleasas (nucleósidos con una estructura endo en 3'), más preferentemente uno o más nucleósidos modificados potenciadores de la afinidad. Como se describe en el presente documento, el flanco en 3' comprende al menos un nucleósido de LNA, preferentemente al menos 2 nucleósidos de LNA. Como se describe en el presente documento, el flanco en 5' comprende al menos un nucleósido de LNA. Como se describe en el presente documento, las regiones flanqueantes tanto 5' como 3' comprenden un nucleósido de LNA. Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos en las regiones flanqueantes son nucleósidos de LNA. Como se describe en el presente documento, las regiones flanqueantes pueden comprender tanto nucleósidos de LNA como otros nucleósidos (flancos mixtos), tales como nucleósidos de ADN y/o nucleósidos no modificados con LNA, tales como nucleósidos sustituidos en 2'. En este caso, el hueco se define como una secuencia contigua de al menos 5 nucleósidos que reclutan RNasa H (nucleósidos con una estructura endo en 2', preferentemente ADN) flanqueada en el extremo 5' y 3' por un nucleósido modificado potenciador de la afinidad, preferentemente LNA, tal como beta-D-oxi-LNA. En consecuencia, los nucleósidos de la región flanqueante en 5' y la región flanqueante en 3' que son contiguas a la región del hueco son nucleósidos modificados, preferentemente nucleósidos que no reclutan nucleasas.

Región F

La región F (flanco en 5' o ala en 5') unida al extremo '5 de la región G comprende, contiene o consiste en al menos un nucleósido modificado tal como al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos al menos 6, al menos 7 nucleósidos modificados. Como se describe en el presente documento, la región F comprende o consiste en de 1 a 7 nucleósidos modificados, tales como de 2 a 6 nucleósidos modificados, tales como de 2 a 5 nucleósidos modificados, tales como de 2 a 4 nucleósidos modificados, tales como de 1 a 3 nucleósidos modificados nucleósidos, tales como 1, 2, 3 o 4 nucleósidos modificados. La región F se define por tener al menos un nucleósido modificado en el extremo 5' y en el extremo 3' de la región.

Como se describe en el presente documento, los nucleósidos modificados en la región F tienen una estructura endo en 3'.

Como se describe en el presente documento, uno o más de los nucleósidos modificados en la región F son nucleósidos modificados en 2'. Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos de la región F son nucleósidos modificados en 2'.

Como se describe en el presente documento, la región F comprende ADN y/o ARN además de los nucleósidos modificados en 2'. Los flancos que comprenden ADN y/o ARN se caracterizan por tener un nucleósido modificado en 2' en el extremo 5' y el extremo 3' (contiguo a la región G) de la región F. Como se describe en el presente documento, la región F comprende nucleósidos de ADN, tales como de 1 a 3 nucleósidos de ADN contiguos, tales como de 1 a 3 o de 1 a 2 nucleósidos de ADN contiguos. Los nucleósidos de ADN en los flancos preferentemente no deberían poder reclutar RNasa H. Como se describe en el presente documento, los nucleósidos modificados en 2' y los nucleósidos de ADN y/o ARN en la región F se alternan con 1 a 3 nucleósidos modificados en 2' y 1 a 3 nucleósidos de ADN y/o de ARN. Dichos flancos también se pueden denominar flancos alternos. La longitud del flanco en 5' (región F) en oligonucleótidos con flancos alternos puede ser de 4 a 10 nucleósidos, tal como de 4 a 8, tal como de 4 a 6 nucleósidos, tal como 4, 5, 6 o 7 nucleósidos modificados. Como se describe en el presente documento, solo se alterna el flanco en 5' del oligonucleótido. Ejemplos específicos de la región F con nucleósidos alternos son

2'¹⁻³-N'¹⁻⁴-2'¹⁻³

2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²

Donde 2' indica un nucleósido modificado y N' es un ARN o ADN. Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos modificados en los flancos alternos son LNA y N' es ADN. En otro modo de realización, uno o más de los nucleósidos modificados en 2' en la región F se seleccionan de unidades de 2'-O-alkil-ARN, 2'-O-metil-ARN, unidades de 2'-amino-ADN, unidades de 2'-fluoro-ADN, 2'-alcoxi-ARN, unidades de MOE, unidades de LNA, unidades de ácido arabinonucleico (ANA) y unidades de 2'-fluoro-ANA.

Como se describe en el presente documento, la región F comprende tanto LNA como un nucleósido modificado sustituido en 2'. Estos a menudo se denominan oligonucleótidos de ala mixta o de flanco mixto.

Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos modificados en la región F son nucleósidos de LNA. En otro modo de realización, todos los nucleósidos en la Región F son nucleósidos de LNA. Como se describe en el presente documento, los nucleósidos de LNA en la región F se seleccionan independientemente del grupo que consiste en oxi-LNA, tio-LNA, amino-LNA, cET y/o ENA, en las configuraciones beta-D o bien alfa-L o combinaciones de las mismas. Como se describe en el presente documento, la región F comprende al menos 1 unidad de beta-D-oxi LNA, en el extremo 5' de la secuencia contigua.

Región G

La región G (región de hueco) preferentemente comprende, contiene o consiste en al menos 4, tal como al menos 5, tal como al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15 o al menos 16 nucleósidos consecutivos capaces de reclutar la nucleasa mencionada anteriormente, en particular RNasa H. Como se describe en el presente documento, la región G comprende, contiene o consiste en de 5 a 12, o de 6 a 10 o de 7 a 9, tales como 8 unidades de nucleótidos consecutivas capaces de reclutar la nucleasa mencionada anteriormente.

Las unidades de nucleósidos en la región G, que son capaces de reclutar nucleasa, son como se describe en el presente documento, seleccionadas del grupo que consiste en ADN, alfa-L-LNA, ADN alquilado en C4' (como se describe en PCT/EP2009/050349 y Vester *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008) 2296-2300), nucleósidos derivados de arabinosa como ANA y 2'-F-ANA (Mangos *et al.* 2003 J. AM. CHEM. SOC. 125, 654-661), UNA (ácido nucleico desbloqueado) (como se describe en Fluiter *et al.*, Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039). UNA es un ácido nucleico desbloqueado, típicamente donde se ha eliminado el enlace entre C2 y C3 de la ribosa, formando un residuo "glucídico" desbloqueado.

Como se describe en el presente documento, al menos una unidad de nucleósido en la región G es una unidad de nucleósido de ADN, tal como de 1 a 18 unidades de ADN, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 unidades de ADN, preferentemente de 2 a 17 unidades de ADN, tal como de 3 a 16 unidades de ADN, tal como de 4 a 15 unidades de ADN, tal como de 5 a 14 unidades de ADN, tal como de 6 a 13 unidades de ADN, como de 7 a 12 unidades de ADN, tal como de 8 a 11 unidades de ADN, más preferentemente de 8 a 17 unidades de ADN, o de 9 a 16 unidades de ADN, de 10 a 15 unidades de ADN o de 11 a 13 unidades de ADN, tal como 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 unidades de ADN. En algunos modos de realización, la región G consiste en un 100 % de unidades de ADN.

Como se describe en el presente documento, la región G puede consistir en una mezcla de ADN y otros nucleósidos capaces de mediar en la escisión de la RNasa H. La región G puede consistir en al menos un 50 % de ADN, más preferentemente un 60 %, 70 % u 80 % de ADN, e incluso más preferentemente un 90 % o 95 % de ADN.

Como se describe en el presente documento, al menos una unidad de nucleósido en la región G es una unidad de nucleósido alfa-L-LNA, tal como al menos un alfa-L-LNA, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 alfa-L-LNA. Como se describe en el presente documento, la región G comprende al menos un alfa-L-LNA es alfa-L-oxi-LNA. Como se describe en el presente documento, la región G comprende una combinación de unidades de nucleósidos de ADN y alfa-L-LNA.

Como se describe en el presente documento, los nucleósidos en la región G tienen una estructura endo en 2'.

5 Como se describe en el presente documento, la región G puede comprender un nucleósido interruptor de huecos, que da lugar a un oligonucleótido interruptor de huecos, que es capaz de reclutar Rnasa H.

Región F'

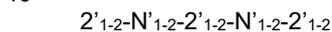
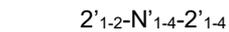
10 La región F' (flanco en 3' o ala en 3') unida al extremo '3 de la región G comprende, contiene o consiste en al menos un nucleósido modificado tal como al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos al menos 6, al menos 7 nucleósidos modificados. Como se describe en el presente documento, F' comprende o consiste en de 1 a 7 nucleósidos modificados, tales como de 2 a 6 nucleósidos modificados, tales como de 2 a 4 nucleósidos modificados, tales como de 1 a 3 nucleósidos modificados, tales como 1, 2, 3 o 4 nucleósidos modificados. La región F' se define por tener al menos un nucleósido modificado en el extremo 5' y en el extremo 3' de la región.

15 Como se describe en el presente documento, los nucleósidos modificados en la región F' tienen una estructura endo en 3'.

20 Como se describe en el presente documento, uno o más de los nucleósidos modificados en la región F' son nucleósidos modificados en 2'. Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos de la región F' son nucleósidos modificados en 2'.

25 Como se describe en el presente documento, uno o más de los nucleósidos modificados en la región F' son nucleósidos modificados en 2'.

30 Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos de la región F' son nucleósidos modificados en 2'. Como se describe en el presente documento, la región F' comprende ADN o ARN además de los nucleósidos modificados en 2'. Los flancos que comprenden ADN o ARN se caracterizan por tener un nucleósido modificado en 2' en el extremo 5' (contiguo a la región G) y el extremo 3' de la región F'. Como se describe en el presente documento, la región F' comprende nucleósidos de ADN, tales como de 1 a 4 nucleósidos de ADN contiguos, tales como de 1 a 3 o de 1 a 2 nucleósidos de ADN contiguos. Los nucleósidos de ADN en los flancos preferentemente no deberían poder reclutar RNasa H. En algunos modos de realización, los nucleósidos modificados en 2' y los nucleósidos de ADN y/o ARN en la región F' se alternan con 1 a 3 nucleósidos modificados en 2' y 1 a 3 nucleósidos de ADN y/o de ARN, dichos flancos también se pueden denominar flancos alternos. La longitud del flanco en 3' (región F') en oligonucleótidos con flancos alternos puede ser de 4 a 10 nucleósidos, tal como de 4 a 8, tal como de 4 a 6 nucleósidos, tal como 4, 5, 6 o 7 nucleósidos modificados. Como se describe en el presente documento, solo se alterna el flanco en 3' del oligonucleótido. Ejemplos específicos de la región F' con nucleósidos alternos son



45 Donde 2' indica un nucleósido modificado y N' es un ARN o ADN. Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos modificados en los flancos alternos son LNA y N' es ADN. Como se describe en el presente documento, los nucleósidos modificados en la región F se seleccionan de unidades de 2'-O-alquil-ARN, 2'-O-metil-ARN, unidades de 2'-amino-ADN, unidades de 2'-fluoro-ADN, 2'-alcoxi-ARN, unidades de MOE, unidades de LNA, unidades de ácido arabinonucleico (ANA) y unidades de 2'-fluoro-ANA.

50 Como se describe en el presente documento la región F' comprende tanto LNA como un nucleósido modificado sustituido en 2'. Estos a menudo se denominan oligonucleótidos de ala mixta o de flanco mixto.

55 Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos modificados en la región F' son nucleósidos de LNA. Como se describe en el presente documento, todos los nucleósidos de la región F' son nucleósidos de LNA. Como se describe en el presente documento, los nucleósidos de LNA en la región F' se seleccionan independientemente del grupo que consiste en oxi-LNA, tio-LNA, amino-LNA, cET y/o ENA, en las configuraciones beta-D o bien alfa-L o combinaciones de las mismas. Como se describe en el presente documento, la región F' tiene al menos 2 unidades de beta-D-oxi LNA, en el extremo 3' de la secuencia contigua.

Región D' y D''

60 Las regiones D' y D'' se pueden unir al extremo 5' de la región F o al extremo 3' de la región F', respectivamente. Las regiones D' o D'' son opcionales.

65 La región D' o D'' puede comprender independientemente de 0 a 5, tal como de 1 a 5, tal como de 2 a 4, tal como 0, 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos adicionales, que pueden ser complementarios o no complementarios al ácido nucleico diana. A este respecto, el oligonucleótido de la invención, en algunos modos de realización, puede comprender una secuencia

de nucleótidos contigua capaz de modular la diana que está flanqueada en el extremo 5' y/o 3' por nucleótidos adicionales. Dichos nucleótidos adicionales pueden servir como un conector bioescindible susceptible a las nucleasa (véase la definición de conectores). En algunos modos de realización, los nucleósidos en los extremos 5' y/o 3' adicionales están enlazados con enlaces fosfodiéster, y pueden ser ADN o ARN. En otro modo de realización, los nucleósidos en los extremos 5' y/o 3' adicionales son nucleósidos modificados que se pueden incluir, por ejemplo, para potenciar la estabilidad de las nucleasas o para facilitar la síntesis. En un modo de realización, el oligonucleótido de la invención comprende una región D' y/o D'' en el extremo 5' o 3' de la secuencia de nucleótidos contigua. En otro modo de realización, la región D' y/o D'' está compuesta por de 1 a 5 nucleósidos de ADN o ARN enlazados por fosfodiéster que no son complementarios al ácido nucleico diana.

El oligonucleótido gapmero de la presente invención se puede representar mediante las siguientes fórmulas:

5'-F-G-F'-3'; en particular F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇
 5'-D'-F-G-F'-3', en particular D'₁₋₃-F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇
 5'-F-G-F'-D''-3', en particular F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇-D''₁₋₃
 5'-D'-F-G-F'-D''-3'', en particular D'₁₋₃-F₁₋₇-G₄₋₁₂-F'₁₋₇-D''₁₋₃

El número y los tipos preferentes de nucleósidos en las regiones F, G y F', D' y D'' se han descrito anteriormente. Los conjugados de oligonucleótidos de la presente invención tienen una región C unida covalentemente al extremo 5' o 3' del oligonucleótido, en particular los oligonucleótidos gapmeros presentados anteriormente.

Como se describe en el presente documento, el conjugado de oligonucleótidos de la invención comprende un oligonucleótido con la fórmula 5'-D'-F-G-F'-3' o 5'-F-G-F'-D''-3', donde la región F y F' independientemente comprenden 1 - 7 nucleósidos modificados, G es una región entre 6 y 16 nucleósidos que son capaces de reclutar RNasaH y la región D' o D'' comprende 1 - 5 nucleósidos enlazados por fosfodiéster. Preferentemente, la región D' o D'' está presente en el extremo del oligonucleótido donde se contempla la conjugación con un resto de conjugado.

Los ejemplos de oligonucleótidos con flancos alternos se pueden representar mediante las siguientes fórmulas:

2'¹⁻³-N'¹⁻⁴-2'¹⁻³-G₆₋₁₂-2'¹⁻²-N'¹⁻⁴-2'¹⁻⁴
 2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²-G₆₋₁₂-2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²
 F-G₆₋₁₂-2'¹⁻²-N'¹⁻⁴-2'¹⁻⁴
 F-G₆₋₁₂-2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²
 2'¹⁻³-N'¹⁻⁴-2'¹⁻³-G₆₋₁₂-F'
 2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²-N'¹⁻²-2'¹⁻²-G₆₋₁₂-F'

Cuando un flanco está indicado por F o F', solo contiene nucleósidos modificados en 2', tal como nucleósidos de LNA. El número y los tipos preferentes de nucleósidos en las regiones alternas y la región F, G y F', D' y D'' se han descrito anteriormente.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es un gapmero que consiste en 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 nucleótidos de longitud, en el que cada una de las regiones F y F' consiste independientemente de 1, 2, 3 o 4 unidades de nucleósidos modificadas complementarias al ácido nucleico diana de PD-L1 y la región G consiste en 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 unidades de nucleósidos, capaces de reclutar nucleasa cuando están en dúplex con el ácido nucleico diana de PD-L1 y la región D' consiste en 2 ADN enlazados por fosfodiéster.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es un gapmero en el que cada una de las regiones F y F' consiste independientemente en 3, 4, 5 o 6 unidades de nucleósidos modificadas, tales como unidades de nucleósidos que contienen un glúcido de 2'-O-metoxietil-ribose (2'-MOE) o unidades de nucleósidos que contienen un glúcido de 2'-fluoro-desoxirribosa y/o unidades de LNA, y la región G consiste en 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 unidades de nucleósidos, tales como unidades de ADN u otros nucleósidos que reclutan nucleasas tales como alfa-L-LNA o una mezcla de nucleósidos de ADN y que reclutan nucleasas.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es un gapmero en el que cada una de las regiones F y F' consiste en dos unidades de LNA cada una, y la región G consiste en 12, 13, 14 unidades de nucleósidos, preferentemente unidades de ADN. Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen 2-12-2, 2-13-2 y 2-14-2.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es un gapmero en el que cada una de las regiones F y F' consiste independientemente en tres unidades de LNA, y la región G consiste en 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 unidades de nucleósidos, preferentemente unidades de ADN. Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen 3-8-3, 3-9-3 3-10-3, 3-11-3, 3-12-3, 3-13-3 y 3-14-3.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es un gapmero en el que cada una de las regiones F y F' consiste en cuatro unidades de LNA cada una, y la región G consiste en 8 o 9, 10, 11 o 12 unidades de nucleósidos, preferentemente unidades de ADN. Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen 4-8-4, 4-9-4, 4-

10-4, 4-11-4 y 4-12-4.

5 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 6 nucleósidos e independientemente de 1 a 4 nucleósidos modificados en las alas, incluyendo gapmeros 1-6-1, 1-6-2, 2-6-1, 1-6-3, 3-6-1, 1-6-4, 4-6-1, 2-6-2, 2-6-3, 3-6-2, 2-6-4, 4-6-2, 3-6-3, 3-6-4 y 4-6-3.

10 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 7 nucleósidos e independientemente de 1 a 4 nucleósidos modificados en las alas, incluyendo gapmeros 1-7-1, 2-7-1, 1-7-2, 1-7-3, 3-7-1, 1-7-4, 4-7-1, 2-7-2, 2-7-3, 3-7-2, 2-7-4, 4-7-2, 3-7-3, 3-7-4, 4-7-3 y 4-7-4.

15 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 8 nucleósidos e independientemente de 1 a 4 nucleósidos modificados en las alas, incluyendo gapmeros 1-8-1, 1-8-2, 1-8-3, 3-8-1, 1-8-4, 4-8-1, 2-8-1, 2-8-2, 2-8-3, 3-8-2, 2-8-4, 4-8-2, 3-8-3, 3-8-4, 4-8-3 y 4-8-4.

20 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 9 nucleósidos e independientemente de 1 a 4 nucleósidos modificados en las alas, incluyendo gapmeros 1-9-1, 2-9-1, 1-9-2, 1-9-3, 3-9-1, 1-9-4, 4-9-1, 2-9-2, 2-9-3, 3-9-2, 2-9-4, 4-9-2, 3-9-3, 3-9-4, 4-9-3 y 4-9-4.

25 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 10 nucleósidos, incluyendo gapmeros 1-10-1, 2-10-1, 1-10-2, 1-10-3, 3-10-1, 1-10-4, 4-10-1, 2-10-2, 2-10-3, 3-10-2, 2-10-4, 4-10-2, 3-10-3, 3-10-4, 4-10-3 y 4-10-4.

30 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 11 nucleósidos, incluyendo gapmeros 1-11-1, 2-11-1, 1-11-2, 1-11-3, 3-11-1, 1-11-4, 4-11-1, 2-11-2, 2-11-3, 3-11-2, 2-11-4, 4-11-2, 3-11-3, 3-11-4, 4-11-3 y 4-11-4.

Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 12 nucleósidos, incluyendo gapmeros 1-12-1, 2-12-1, 1-12-2, 1-12-3, 3-12-1, 1-12-4, 4-12-1, 2-12-2, 2-12-3, 3-12-2, 2-12-4, 4-12-2, 3-12-3, 3-12-4, 4-12-3 y 4-12-4.

35 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 13 nucleósidos, incluyendo gapmeros 1-13-1, 2-13-1, 1-13-2, 1-13-3, 3-13-1, 1-13-4, 4-13-1, 2-13-2, 2-13-3, 3-13-2, 2-13-4, 4-13-2, 3-13-3, 3-13-4, 4-13-3 y 4-13-4.

40 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 14 nucleósidos, incluyendo gapmeros 1-14-1, 2-14-1, 1-14-2, 1-14-3, 3-14-1, 1-14-4, 4-14-1, 2-14-2, 2-14-3, 3-14-2, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 3-14-4, 4-14-3 y 4-14-4.

45 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 15 nucleósidos, incluyendo gapmeros 1-15-1, 2-15-1, 1-15-2, 1-15-3, 3-15-1, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-2, 2-15-3, 3-15-2, 2-15-4, 4-15-2 y 3-15-3.

50 Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 16 nucleósidos, incluyendo gapmeros 1-16-1, 2-16-1, 1-16-2, 1-16-3, 3-16-1, 1-16-4, 4-16-1, 2-16-2, 2-16-3, 3-16-2, 2-16-4, 4-16-2 y 3-16-3.

Los diseños específicos de gapmeros de esta naturaleza incluyen diseños F-G-F' seleccionados de un grupo que consiste en un hueco con 17 nucleósidos, incluyendo gapmeros 1-17-1, 2-17-1, 1-17-2, 1-17-3, 3-17-1, 1-17-4, 4-17-1, 2-17-2, 2-17-3 y 3-17-2.

55 En todos los casos, el diseño de F-G-F' puede incluir además la región D' y/o D'', que puede tener 1, 2 o 3 unidades de nucleósidos, tales como unidades de ADN, tales como 2 unidades de ADN enlazadas con fosfodiéster. Preferentemente, los nucleósidos en la región F y F' son nucleósidos modificados, mientras que los nucleótidos en la región G son preferentemente nucleósidos no modificados.

60 En cada diseño, el nucleósido modificado preferente es LNA.

65 Como se describe en el presente documento, todos los enlaces internucleosídicos en el hueco en un gapmero son enlaces fosforotioato y/o boranofosfato. Como se describe en el presente documento, todos los enlaces internucleosídicos en los flancos (región F y F') en un gapmero son enlaces fosforotioato y/o boranofosfato. Como se describe en el presente documento, todos los enlaces internucleosídicos en la región D' y D'' en un gapmero son enlaces fosfodiéster.

Para los gapmeros específicos como se divulgan en el presente documento, cuando los residuos de citosina (C) se anotan como 5-metil-citosina, como se describe en el presente documento, uno o más de los C presentes en el oligonucleótido pueden ser residuos de C no modificados.

5 Como se describe en el presente documento, el gapmero es lo que se denomina un oligómero con huecos cortos (shortmer) como se describe en el documento WO2008/113832.

En los documentos WO2004/046160, WO2007/146511 se divulgan otros diseños de gapmeros.

10 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido se selecciona del grupo de compuestos oligonucleotídicos con CMP-ID-NO: 5_1 a 743_1 y 771_1.

15 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido se selecciona del grupo de compuestos oligonucleotídicos con CMP-ID-NO 6_1, 8_1, 9_1, 13_1, 41_1, 42_1, 58_1, 77_1, 92_1, 111_1, 128_1, 151_1, 164_1, 166_1, 169_1, 171_1, 222_1, 233_1, 245_1, 246_1, 250_1, 251_1, 252_1, 256_1, 272_1, 273_1, 287_1, 292_1, 303_1, 314_1, 318_1, 320_1, 324_1, 336_1, 342_1, 343_1, 344_1, 345_1, 346_1, 349_1, 359_1, 360_1, 374_1, 408_1, 409_1, 415_1, 417_1, 424_1, 429_1, 430_1, 458_1, 464_1, 466_1, 474_1, 490_1, 493_1, 512_1, 519_1, 519_1, 529_1, 533_1, 534_1, 547_1, 566_1, 567_1, 578_1, 582_1, 601_1, 619_1, 620_1, 636_1, 637_1, 638_1, 640_1, 645_1, 650_1, 651_1, 652_1, 653_1, 658_1, 659_1, 660_1, 665_1, 678_1, 679_1, 680_1, 682_1, 683_1, 684_1, 687_1, 694_1, 706_1, 716_1, 728_1, 733_1, 734_1 y 735_1.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es CMP-ID-NO: 287_1.

25 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es CMP-ID-NO: 342_1.

En otro modo de realización preferente de la invención, el oligonucleótido es CMP-ID-NO: 640_1.

30 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es CMP-ID-NO: 466_1.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido es CMP-ID-NO: 566_1.

35 En otro modo de realización de la invención, la secuencia de nucleótidos contigua de los motivos oligonucleotídicos y los compuestos oligonucleotídicos de la invención comprenden de dos a cuatro nucleósidos adicionales enlazados por fosfodiéster en el extremo 5' de la secuencia de nucleótidos contigua (por ejemplo, región D'). En un modo de realización, los nucleósidos sirven como conector bioescindible (véase la sección sobre conectores bioescindibles). En un modo de realización preferente, un dinucleótido de ca (citidina-adenosina) se une al extremo 5' de la secuencia de nucleótidos contigua (es decir, una cualquiera de las secuencias de motivos o compuestos oligonucleotídicos enumerados en la tabla 5) por medio de un enlace fosfodiéster. En un modo de realización preferente, el dinucleótido ca no es complementario a la secuencia diana en la posición donde el recordatorio del nucleótido contiguo es complementario.

45 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido o la secuencia de nucleótidos contigua se selecciona del grupo que consiste en las secuencias de motivos nucleotídicos con SEQ ID NO: 766, 767, 768, 769 y 770.

Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido se selecciona del grupo que consiste en los compuestos oligonucleotídicos con CMP-ID-NO766_1, 767_1, 768_1, 769_1 y 770_1.

50 Restos de conjugado de carbohidrato

Los restos de conjugado de carbohidrato incluyen galactosa, lactosa, n-acetilgalactosamina, manosa y manosa-6-fosfato. Se pueden usar conjugados de carbohidratos para potenciar la administración o la actividad en una gama de tejidos, tales como hígado y/o músculo. Véase, por ejemplo, el documento EP1495769, el documento WO99/65925, Yang et al., Bioconjug Chem (2009) 20 (2): 213-21. Zatspein y Oretskaya Chem Biodivers. (2004) 1(10): 1401-17.

55 En algunos modos de realización, el resto de conjugado de carbohidrato es multivalente, tal como, por ejemplo, 2, 3 o 4 restos de carbohidrato idénticos o no idénticos se pueden unir covalentemente al oligonucleótido, opcionalmente por medio de un conector o conectores. En algunos modos de realización, la invención proporciona un conjugado que comprende el oligonucleótido de la invención y un resto de conjugado de carbohidrato.

60 En algunos modos de realización, el resto de conjugado es o puede comprender manosa o manosa-6-fosfato. Esto es útil en particular para dirigirse a células musculares, véase, por ejemplo, el documento US2012/122801.

65 Los restos de conjugado que se pueden unir al receptor para la asialoglicoproteína (ASGPr) son útiles en particular para dirigirse a los hepatocitos en el hígado. En algunos modos de realización, la invención proporciona un conjugado de oligonucleótidos que comprende el oligonucleótido de la invención y un resto de conjugado dirigido al receptor para

la asialoglicoproteína. El resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína comprende uno o más restos de carbohidrato que se pueden unir al receptor para la asialoglicoproteína (restos de carbohidrato de unión a ASPGr) con una afinidad igual o mayor que la de la galactosa. Se han estudiado las afinidades de numerosos derivados de la galactosa por el receptor para la asialoglicoproteína (véase, por ejemplo: Jobst, S.T. Y Drickamer, K. JB.C. 1996, 271.6686) o se determinan fácilmente usando procedimientos típicos en la técnica.

En el presente documento se describe un conjugado de oligonucleótidos antisentido que comprende a) un oligonucleótido (región A) que comprende una secuencia de nucleótidos contigua de 10 a 30 nucleótidos de longitud con al menos un 90 % de complementariedad con un ácido nucleico diana de PD-L1; y b) al menos un resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína (región C) unido covalentemente al oligonucleótido en a). El oligonucleótido o una secuencia de nucleótidos contigua puede ser como se describe en cualquiera de las secciones "oligonucleótidos de la invención", "diseño de oligonucleótidos y "diseño de gámperos".

En algunos modos de realización, el resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína comprende al menos un resto de carbohidrato de unión a ASPGr seleccionado del grupo que consiste en galactosa, galactosamina, N-formil-galactosamina, N-acetilgalactosamina, N-propionil-galactosamina, N-n-butanoil-galactosamina y N-isobutanoilgalactosamina. En algunos modos de realización, el resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína es monovalente, divalente, trivalente o tetravalente (es decir, que contiene restos de carbohidrato 1,2, 3 o 4 terminal que se pueden unir al receptor para la asialoglicoproteína). Preferentemente, el resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína es divalente, incluso más preferente es trivalente. En un modo de realización preferente, el resto de conjugado dirigido al receptor para asialoglicoproteína comprende de 1 a 3 restos de N-acetilgalactosamina (GalNAc) (también denominado conjugado de GalNAc). En algunos modos de realización, el conjugado de oligonucleótidos comprende un resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína que es un resto de N-acetilgalactosamina trivalente (GalNAc). Se han usado conjugados de GalNAc con fosfodiéster, metilfosfonato y oligonucleótidos antisentido de PNA (por ejemplo, documento US5.994517 y Hangeland *et al.*, Bioconjug Chem. 1995 Nov-Dec; 6(6):695-701, Biessen et al 1999 Biochem J. 340, 783-792 y Maier et al 2003 Bioconjug Chem 14, 18-29) y ARNip (por ejemplo, documentos WO2009/126933, WO2012/089352 y WO2012/083046) y con nucleósidos de LNA y modificados en 2'-MOE documentos WO2014/076196 WO2014/207232 y WO2014/179620.

Para generar el resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína, los restos de carbohidrato de unión a ASPGr (preferentemente GalNAc) se unen a una molécula ramificadora a través de los carbonos C-1 de los sacáridos. Los restos de carbohidrato de unión a ASPGr se unen preferentemente a la molécula ramificadora por medio de espaciadores. Un espaciador preferente es un espaciador hidrófilo flexible (patente de EE. UU. 5885968; Biessen et al. J. Med. Chem. 1995 Vol. 39 p. 1538-1546). Un espaciador hidrófilo flexible preferente es un espaciador de PEG. Un espaciador de PEG preferente es un espaciador de PEG3 (tres unidades de etileno). La molécula ramificadora puede ser cualquier molécula pequeña que permita la unión de dos o tres restos de carbohidrato de unión a ASPGr terminales y además permita la unión del punto de ramificación al oligonucleótido. Una molécula ramificadora ejemplar es una di-lisina. Una molécula de di-lisina contiene tres grupos amina a través de los cuales se pueden unir tres restos de carbohidrato de unión a ASPGr y un grupo reactivo con carboxilo a través del cual la di-lisina se puede unir al oligonucleótido. Las moléculas ramificadoras alternativas pueden ser un doblador o un triplicador como las suministradas por Glen Research. En algunos modos de realización, el ramificador se puede seleccionar del grupo que consiste en 1,3-bis-[5-(4,4'-dimetoxitritiloxi)pentilamido]propil-2-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]fosforamidita (número de catálogo de Glen Research: 10-1920-xx), tris-2,2,2-[3-(4,4'-dimetoxitritiloxi)propiloximetil]etil-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita (número de catálogo de Glen Research: 10-1922-xx), tris-2,2,2-[3-(4,4'-dimetoxitritiloxi)propiloximetil]metilenohipropil-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita y 1-[5-(4,4'-dimetoxitritiloxi)pentilamido]-3-[5-fluorenometoxicarbonil-oxi-pentilamido]-propil-2-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita (número de catálogo de Glen Research: 10-1925-xx). El documento WO2014/179620 y la solicitud PCT n.º PCT/EP2015/073331 describen la generación de diversos restos de conjugado de GalNAc. Se pueden insertar uno o más conectores entre la molécula ramificadora y el oligonucleótido. En un modo de realización preferente, el conector es un conector bioescindible. El conector se puede seleccionar de los conectores descritos en la sección "Conectores" y sus subsecciones.

El resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína, en particular el resto de conjugado de GalNAc, se puede unir al extremo 3' o 5' del oligonucleótido usando procedimientos conocidos en la técnica. En modos de realización preferentes, el resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína se une al extremo 5' del oligonucleótido.

Los moduladores farmacocinéticos en relación con la administración de ARNip se han descrito en el documento WO2012/083046. En algunos modos de realización, el resto de conjugado de carbohidrato comprende un modulador farmacocinético seleccionado del grupo que consiste en un grupo hidrófobo que tiene 16 o más átomos de carbono, un grupo hidrófobo que tiene 16-20 átomos de carbono, palmitoilo, hexadec-8-enoilo, oleilo, (9E, 12E)-octadeca-9,12dienoilo, dioctanoilo y acilo C16-C20, y colesterol. En un modo de realización preferente, el modulador farmacocinético que contiene el resto de conjugado de carbohidrato es un conjugado de GalNAc.

Los restos de conjugado de carbohidrato preferentes comprenden de uno a tres restos de carbohidrato de unión a

ASPG_r terminales, preferentemente resto(s) de N-acetilgalactosamina. En algunos modos de realización, el resto de conjugado de carbohidrato comprende tres restos de carbohidrato de unión a ASPG_r, preferentemente restos de N-acetilgalactosamina, unidos por medio de un espaciador a una molécula ramificadora. La molécula espaciadora puede tener entre 8 y 30 átomos de longitud. Un resto de conjugado de carbohidrato preferente comprende tres restos de GalNAc terminales unidos por medio de un espaciador de PEG a una molécula ramificadora de di-lisina. Preferentemente, el espaciador de PEG es un espaciador de 3PEG. Se muestran en la figura 1 restos de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína adecuados. Se muestra en la figura 3 un resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína preferente.

Otros restos de conjugado de GalNAc pueden incluir, por ejemplo, pequeños péptidos con restos de GalNAc unidos tales como Tyr-Glu-Glu- (aminohexil GalNAc)₃ (YEE(ahGalNAc)₃); un glicotripeptido que se une al receptor para la asialoglicoproteína en los hepatocitos, véase, por ejemplo, Duff et al., *Methods Enzymol.*, 2000, 313, 297); clústers de galactosa basados en lisina (por ejemplo, L3G4; Biessen, et al., *Cardiovasc. Med.*, 1999, 214); y clústers de galactosa basados en colano (por ejemplo, motivo de reconocimiento de carbohidratos para el receptor para la asialoglicoproteína).

Como se describe en el presente documento, el conjugado de oligonucleótidos antisentido se selecciona del grupo que consiste en los siguientes CPM ID NO: 766_2, 767_2, 768_2, 769_2 y 770_2.

Como se describe en el presente documento, el conjugado de oligonucleótidos antisentido corresponde al compuesto representado en la figura 4.

Como se describe en el presente documento, el conjugado de oligonucleótidos antisentido corresponde al compuesto representado en la figura 5.

En otro modo de realización preferente, el conjugado de oligonucleótidos antisentido corresponde al compuesto representado en la figura 6.

Como se describe en el presente documento, el conjugado de oligonucleótidos antisentido corresponde al compuesto representado en la figura 7.

Como se describe en el presente documento, el conjugado de oligonucleótidos antisentido corresponde al compuesto representado en la figura 8.

Conectores

Conectores bioescindibles (región B)

El uso de un conjugado a menudo se asocia con propiedades dinámicas farmacocinéticas o farmacodinámicas potenciadas. Sin embargo, la presencia de un resto de conjugado puede interferir en la actividad del oligonucleótido contra su diana pretendida, por ejemplo a través de un impedimento estérico que evita la hibridación o el reclutamiento de nucleasas (por ejemplo, RNasaH). El uso de un enlace fisiológicamente lábil (conector bioescindible) entre el oligonucleótido (región A o primera región) y el resto de conjugado (región C o tercera región) permite mejorar las propiedades debido a la presencia del resto de conjugado, al tiempo que garantiza que, una vez en el tejido diana, el grupo del conjugado no evita la actividad eficaz del oligonucleótido.

La escisión del enlace fisiológicamente lábil se produce espontáneamente cuando una molécula que contiene el enlace lábil alcanza un entorno intra y/o extracelular apropiado. Por ejemplo, un enlace lábil al pH se puede escindir cuando la molécula entra en un endosoma acidificado. Por tanto, un enlace lábil al pH se puede considerar un enlace escindible endosómico. Los enlaces escindibles por enzimas se pueden escindir cuando se exponen a enzimas tales como las presentes en un endosoma o lisosoma o en el citoplasma. Un enlace disulfuro se puede escindir cuando la molécula entra en el entorno más reductor del citoplasma celular. Por tanto, se puede considerar que un disulfuro es un enlace escindible citoplásmico. Como se usa en el presente documento, un enlace lábil al pH es un enlace lábil que se rompe selectivamente en condiciones ácidas (pH <7). Dichos enlaces también se pueden denominar enlaces endosómicamente lábiles, ya que los endosomas y lisosomas celulares tienen un pH inferior a 7.

Para conectores bioescindibles asociados con un resto de conjugado para administración dirigida, es preferente que la tasa de escisión observada en el tejido diana (por ejemplo, músculo, hígado, riñón o un tumor) sea mayor que la encontrada en el suero sanguíneo. Los métodos adecuados para determinar el nivel (%) de escisión en el tejido diana frente al suero o de escisión por la nucleasa S1 se describen en la sección "Materiales y procedimientos". En algunos modos de realización, el conector bioescindible (también denominado conector fisiológicamente lábil, o conector susceptible a nucleasas o región B), en un conjugado de la invención, se escinde al menos aproximadamente un 20 %, tal como al menos aproximadamente un 30 %, tal como al menos aproximadamente un 40 %, tal como al menos aproximadamente un 50 %, tal como al menos aproximadamente un 60 %, tal como al menos aproximadamente un 70 %, tal como al menos aproximadamente un 75 % en comparación con un estándar.

Como se describe en el presente documento, el conjugado de oligonucleótidos comprende tres regiones: i) una primera región (región A), que comprende 10-25 nucleótidos contiguos complementarios al ácido nucleico diana; ii) una segunda región (región B) que comprende un conector bioescindible y iii) una tercera región (región C) que comprende un resto de conjugado, tal como un resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína, en el que la tercera región se une covalentemente a la segunda región que se une covalentemente a la primera región.

Como se describe en el presente documento, el conjugado de oligonucleótidos comprende un conector bioescindible (región B) entre la secuencia de nucleótidos contigua (región A) y el resto de conjugado dirigido al receptor para la asialoglicoproteína (región C).

En algunos modos de realización, el conector bioescindible puede estar situado en el extremo 5' y/o bien en el extremo 3' de los nucleótidos contiguos complementarios al ácido nucleico diana (región A). En un modo de realización preferente, el conector bioescindible está en el extremo 5'.

En algunos modos de realización, el conector escindible es susceptible a nucleasa(s) que, por ejemplo, se pueden expresar en la célula diana. En algunos modos de realización, el conector bioescindible se compone de 2 a 5 enlaces fosfodiéster consecutivos. El conector puede ser una región corta (por ejemplo, 1-10 como se detalla en la definición de conectores) nucleósidos enlazados por fosfodiéster. En algunos modos de realización, los nucleósidos en la región B del conector bioescindible se seleccionan (opcionalmente independientemente) del grupo que consiste en ADN y ARN o modificaciones de los mismos que no interfieren en la escisión por nucleasas. Las modificaciones de nucleósidos de ADN y ARN que no interfieren en la escisión por nucleasas pueden ser nucleobases no naturales. Determinados nucleósidos modificados con glúcidos también pueden permitir la escisión por nucleasas, tal como un alfa-L-oxi-LNA. En algunos modos de realización, todos los nucleósidos de la región B comprenden (opcionalmente independientemente) un glúcido 2'-OH ribosa (ARN) o un glúcido 2'-H, es decir, ARN o ADN. En un modo de realización preferente, al menos dos nucleósidos consecutivos de la región B son nucleósidos de ADN o ARN (tales como al menos 3 o 4 o 5 nucleósidos de ADN o ARN consecutivos). En un modo de realización aún más preferente, los nucleósidos de la región B son nucleósidos de ADN. Preferentemente, la región B consiste en entre 1 a 5, o 1 a 4, tales como 2, 3, 4 nucleósidos de ADN consecutivos enlazados por fosfodiéster. En modos de realización preferentes, la región B es tan corta que no recluta RNasa H. En algunos modos de realización, la región B comprende no más de 3 o no más de 4 nucleósidos consecutivos de ADN y/o ARN enlazados por fosfodiéster (tales como nucleósidos de ADN).

Cuando la región B está compuesta por nucleósidos enlazados por fosfodiéster, la región A y B pueden formar conjuntamente el oligonucleótido que se une a la región C. En este contexto, la región A se puede diferenciar de la región B en que la región A comienza con al menos uno, preferentemente al menos dos, nucleósidos modificados con una afinidad de unión incrementada al ácido nucleico diana (por ejemplo, LNA o nucleósidos con un resto glucídico sustituido en 2') y la región A por sí sola es capaz de modular la expresión del ácido nucleico diana en una línea celular pertinente. Además, si la región A comprende nucleósidos de ADN o ARN, estos se enlazan con un enlace internucleosídico resistente a nucleasas, como fosforotioato o boranofosfato. La región B, por otra parte, comprende enlaces fosfodiéster entre nucleósidos de ADN o ARN. En algunos modos de realización, la región B no es complementaria al ni comprende al menos un 50 % de emparejamientos erróneos con el ácido nucleico diana.

En algunos modos de realización, la región B no es complementaria a la secuencia de ácido nucleico diana ni a los nucleótidos contiguos complementarios al ácido nucleico diana en la región A.

En algunos modos de realización, la región B es complementaria con la secuencia de ácido nucleico diana. A este respecto, las regiones A y B conjuntamente pueden formar una única secuencia contigua que es complementaria a la secuencia diana.

En algunos aspectos de la invención, el enlace internucleosídico entre la primera (región A) y la segunda región (región B) se puede considerar parte de la segunda región.

En algunos modos de realización, la secuencia de bases en la región B se selecciona para proporcionar un sitio de escisión por las endonucleasas óptimo, basado en las enzimas predominantes de escisión por endonucleasas presentes en el tejido o célula diana o compartimento subcelular. A este respecto, aislando extractos celulares de tejidos diana y tejidos no diana, las secuencias de escisión por endonucleasas para su uso en la región B se pueden seleccionar en base a una actividad de escisión preferencial en la célula diana deseada (por ejemplo, hígado/hepatocitos) en comparación con una célula no diana (por ejemplo, riñón). A este respecto, la potencia del compuesto para la regulación por disminución de la diana se puede optimizar para el tejido/célula deseado.

En algunos modos de realización, la región B comprende un dinucleótido de secuencia AA, AT, AC, AG, TA, TT, TC, TG, CA, CT, CC, CG, GA, GT, GC o GG, en la que C puede ser 5-metilcitosina, y/o T se puede reemplazar con U. Preferentemente, el enlace internucleosídico es un enlace fosfodiéster. En algunos modos de realización, la región B comprende un trinucleótido de secuencia AAA, AAT, AAC, AAG, ATA, ATT, ATC, ATG, ACA, ACT, ACC, ACG, AGA, AGT, AGC, AGG, TAA, TAT, TAC, TAG, TTA, TTT, TTC, TAG, TCA, TCT, TCC, TCG, TGA, TGT, TGC, TGG, CAA, CAT, CAC, CAG, CTA, CTG, CTC, CTT, CCA, CCT, CCC, CCG, CGA, CGT, CGC, CGG, GAA, GAT, GAC, CAG,

GTA, GTT, GTC, GTG, GCA, GCT, GCC, GCG, GGA, GGT, GGC y GGG en la que C puede ser 5-metilcitosina y/o T se puede reemplazar con U. Preferentemente, los enlaces internucleósidos son enlaces fosfodiéster. En algunos modos de realización, la región B comprende un trinucleótido de secuencia AAAX, AATX, AACX, AAGX, ATAX, ATTX, ATCX, ATGX, ACAX, ACTX, ACCX, ACGX, AGAX, AGTX, AGCX, AGGX, TAAX, TATX, TACX, TAGX, TTAX, TTTX, TTCX, TAGX, TCAX, TCTX, TCCX, TCGX, TGAX, TGTX, TGCX, TGGX, CAAX, CATX, CACX, CAGX, CTAX, CTGX, CTCX, CTTX, CCAX, CCTX, CCCX, CCGX, CGAX, CGTX, CGCX, CCGX, GAAX, GATX, GACX, CAGX, GTAX, GTTX, GTCX, GTGX, GCAX, GCTX, GCCX, GCGX, GGAX, GGTX, GGCX y GGGX, en la que X se puede seleccionar del grupo que consiste en A, T, U, G, C y análogos de los mismos, en la que C puede ser 5-metilcitosina y/o T se puede reemplazar con U. Preferentemente, los enlaces internucleosídicos son enlaces fosfodiéster. Se reconocerá que, cuando se hace referencia a las nucleobases (naturales) A, T, U, G, C, estas se pueden sustituir con análogos de nucleobases que funcionan como la nucleobase natural equivalente (por ejemplo, par de bases con el nucleósido complementario).

Otros conectores (región Y)

El conector puede tener al menos dos funcionalidades, una para unirse al oligonucleótido y la otra para unirse al resto de conjugado. Las funcionalidades del conector de ejemplo pueden ser electrófilas para reaccionar con grupos nucleófilos en el oligonucleótido o resto de conjugado, o nucleófilas para reaccionar con grupos electrófilos. En algunos modos de realización, las funcionalidades del conector incluyen amino, hidroxilo, ácido carboxílico, tiol, fosforamidoato, fosforotioato, fosfato, fosfito, insaturaciones (por ejemplo, enlaces dobles o triples). Algunos conectores de ejemplo (región Y) incluyen ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC), ácido 6-aminohexanoico (AHEX o AHA), 6 aminohehexiloxi, ácido 4-aminobutírico, ácido 4-aminociclohexilcarboxílico, 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amido-caproato) de succinimidilo (LCSMCC), m-maleimido-benzoilato de succinimidilo (MBS), N-e-maleimido-caproilato de succinimidilo (EMCS), 6-(beta-maleimido-propionamido)hexanoato de succinimidilo (SMPH), N-(a-maleimido acetato) de succinimidilo (AMAS), 4-(p-maleimidofenil) butirato de succinimidilo (SMPB), beta-alanina (beta-ALA), fenilglicina (PHG), ácido 4-aminociclohexanoico (ACHC), beta-(ciclopropil)alanina (beta-CYPR), ácido aminododecanoico (ADC), alilen dioles, polietilenglicoles, aminoácidos. En algunos modos de realización, el conector (región Y) es un alquilamino, tal como un grupo amino alquilo C2-C36, que incluye, por ejemplo, grupos amino alquilo C6 a C12. En un modo de realización preferente, el conector (región Y) es un grupo amino alquilo C6. El grupo amino alquilo se puede añadir al oligonucleótido (región A o región A-B) como parte de la síntesis de oligonucleótidos estándar, por ejemplo usando una amino alquil fosforamidita (por ejemplo, protegida). El grupo de enlace entre el amino alquilo y el oligonucleótido puede ser, por ejemplo, un fosforotioato o un fosfodiéster, o uno de los otros grupos de enlace de nucleósidos a los que se hace referencia en el presente documento. El grupo amino alquilo se une covalentemente al extremo 5' o 3' del oligonucleótido. Los conectores amino alquilo disponibles comercialmente son, por ejemplo, el reactivo 3'-Amino-Modifier para el enlace en el extremo 3' del oligonucleótido y, para el enlace en el extremo 5', de un oligonucleótido está disponible 5'-Amino-Modifier C6. Estos reactivos están disponibles en Glen Research Corporation (Sterling, Va.). Estos compuestos u otros similares fueron utilizados por Krieg et al, Antisense Research and Development 1991, 1, 161 para unir la fluoresceína al extremo 5' de un oligonucleótido. Son conocidos en la técnica una amplia variedad de otros grupos conectores y pueden ser útiles en la unión de restos de conjugado a oligonucleótidos. Se puede encontrar una revisión de muchos de los grupos conectores útiles en, por ejemplo, Antisense Research and Applications, S. T. Crooke and B. Lebleu, Eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1993, p. 303-350. Otros compuestos tales como acridina se han unido al grupo fosfato terminal 3' de un oligonucleótido por medio de un enlace de polimetileno (Asseline, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1984, 81,3297). Cualquiera de los grupos anteriores se puede usar como un solo conector (región Y) o en combinación con uno o más conectores adicionales (región Y-Y' o región Y-B o B-Y).

Los conectores y su uso en la preparación de conjugados de oligonucleótidos se proporcionan a lo largo de la técnica tal como en los documentos WO96/11205 y WO98/52614 y las patentes de EE. UU. n.os 4.948.882; 5.525.465; 5.541.313; 5.545.730; 5.552.538; 5.580.731; 5.486.603; 5.608.046; 4.587.044; 4.667.025; 5.254.469; 5.245.022; 5.112.963; 5.391.723; 5.510.475; 5.512.667; 5.574.142; 5.684.142; 5.770.716; 6.096.875; 6.335.432; y 6.335.437, el documento WO2012/083046.

Procedimiento de fabricación

En el presente documento se describen procedimientos para fabricar los oligonucleótidos de la invención que comprenden hacer reaccionar unidades de nucleótidos y de ese modo formar unidades de nucleótidos contiguas unidas covalentemente comprendidas en el oligonucleótido. Preferentemente, el procedimiento usa la química de la fosforamidita (véase, por ejemplo, Caruthers et al, 1987, Methods in Enzymology vol. 154, páginas 287-313). Como se describe en el presente documento, el procedimiento comprende además hacer reaccionar la secuencia de nucleótidos contigua con un resto de conjugación (ligando). En el presente documento se describe un procedimiento se proporciona para fabricar la composición de la invención, que comprende mezclar el oligonucleótido o el oligonucleótido conjugado de la invención con un diluyente, disolvente, vehículo, sal y/o adyuvante farmacéuticamente aceptables.

Composición farmacéutica

Como se describe en el presente documento, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los oligonucleótidos y/o conjugados de oligonucleótidos mencionados anteriormente y un diluyente, disolvente, vehículo, sal y/o adyuvante farmacéuticamente aceptables. Un diluyente farmacéuticamente aceptable incluye una solución salina tamponada con fosfato (PBS) y las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de sodio y potasio. En algunos modos de realización, el diluyente farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato estéril. En algunos modos de realización, el oligonucleótido se usa en el diluyente farmacéuticamente aceptable a una concentración de solución 50-300 μ M.

Las formulaciones adecuadas para su uso en la presente invención se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, Pa., 17.^a ed., 1985. Para una breve revisión de los procedimientos para la administración de fármacos, véase, por ejemplo, Langer (Science 249:1527-1533, 1990). El documento WO2007/031091 proporciona otros ejemplos adecuados y preferentes de diluyentes, vehículos y adyuvantes farmacéuticamente aceptables. En el documento WO2007/031091 también se proporcionan dosis, formulaciones, vías de administración, composiciones, formas farmacéuticas, combinaciones con otros agentes terapéuticos y formulaciones de profármacos adecuadas.

Los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos de la invención se pueden mezclar con sustancias activas o inertes farmacéuticamente aceptables para la preparación de composiciones o formulaciones farmacéuticas. Las composiciones y los procedimientos para la formulación de composiciones farmacéuticas dependen de varios criterios, que incluyen la vía de administración, el alcance de la enfermedad o la dosis que se va a administrar.

Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales o se pueden esterilizar por filtración. Las soluciones acuosas resultantes se pueden envasar para su uso tal cual, o liofilizar, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración.

El pH de las preparaciones estará típicamente entre 3 y 11, más preferentemente entre 5 y 9 o entre 6 y 8, y lo más preferentemente entre 7 y 8, tal como 7 a 7,5. Las composiciones resultantes en forma sólida se pueden envasar en múltiples unidades de dosis única, cada una de las cuales contiene una cantidad fija del agente o agentes mencionados anteriormente, tal como en un envase sellado de comprimidos o cápsulas. La composición en forma sólida también se puede envasar en un recipiente para una cantidad flexible, tal como en un tubo comprimible diseñado para una crema o pomada de aplicación tópica.

En algunos modos de realización, el oligonucleótido o conjugado de oligonucleótido de la invención es un profármaco. En particular, con respecto a los conjugados de oligonucleótidos, el resto de conjugado se escinde del oligonucleótido una vez que el profármaco se administra al sitio de acción, por ejemplo, la célula diana.

Aplicaciones

Los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos de la presente invención se pueden utilizar como reactivos de investigación para, por ejemplo, diagnóstico, tratamientos y profilaxis.

En investigación, dichos oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos se pueden usar para modular específicamente la síntesis de la proteína PD-L1 en células (por ejemplo, cultivos *in vitro*) y animales de laboratorio, facilitando de este modo el análisis funcional de la diana o una valoración de su utilidad como diana para intervención terapéutica. Típicamente, la modulación de la diana se logra degradando o inhibiendo el ARNm que produce la proteína, evitando de ese modo la formación de proteínas o degradando o inhibiendo un modulador del gen o ARNm que produce la proteína.

Si se emplea el oligonucleótido de la invención en investigación o diagnóstico, el ácido nucleico diana puede ser un ADNc o un ácido nucleico sintético derivado de ADN o ARN.

En el presente documento se describe un procedimiento *in vivo* o *in vitro* para modular la expresión de PD-L1 en una célula diana que expresa PD-L1, comprendiendo dicho procedimiento administrar un oligonucleótido o conjugado de oligonucleótidos de la invención en una cantidad eficaz a dicha célula.

Como se describe en el presente documento, la célula diana es una célula de mamífero, en particular una célula humana. La célula diana puede ser un cultivo celular *in vitro* o una célula *in vivo* que forma parte de un tejido en un mamífero. Como se describe en el presente documento, la célula diana está presente en el hígado. La célula diana del hígado se puede seleccionar de células parenquimatosas (por ejemplo, hepatocitos) y células no parenquimatosas tales como células de Kupffer, LSEC, células estrelladas (o células Ito), colangiocitos y leucocitos asociados al hígado (incluyendo linfocitos T y linfocitos NK). Como se describe en el presente documento, la célula diana es una célula presentadora de antígeno. Las células presentadoras de antígenos presentan xenoantígenos que forman complejos con el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I o clase II en sus superficies. En algunos modos de realización, la célula presentadora de antígeno expresa MHC de clase II (es decir, células presentadoras de antígenos profesionales tales como células dendríticas, macrófagos y linfocitos B).

En el diagnóstico, los oligonucleótidos se pueden usar para detectar y cuantificar la expresión de PD-L1 en células y tejidos mediante transferencia de tipo Northern, hibridación *in situ* o técnicas similares.

5 Para tratamientos, los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos de la presente invención o las composiciones farmacéuticas de los mismos se pueden administrar a un animal o un ser humano, sospechoso de tener una enfermedad o trastorno, que se puede aliviar o tratar mediante la reducción de la expresión de PD-L1, en particular por reducción de la expresión de PD-L1 en las células diana del hígado.

10 En el presente documento se describen procedimientos para tratar o evitar una enfermedad, que comprenden administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un oligonucleótido, un conjugado de oligonucleótidos o una composición farmacéutica de la invención a un sujeto que padece o es susceptible a la enfermedad.

15 La invención también se refiere a un oligonucleótido, conjugado de oligonucleótidos o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención para su uso como medicamento.

El oligonucleótido, el conjugado de oligonucleótidos o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención se administra típicamente en una cantidad eficaz.

20 En el presente documento se describe el uso del oligonucleótido o conjugado de oligonucleótidos o composición farmacéutica de la invención como se describe para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno como se hace referencia en el presente documento. Como se describe en el presente documento, la enfermedad se selecciona de a) infecciones víricas del hígado tales como infecciones por el VHB, el VHC y el VHD; b) parasitosis tales como malaria, toxoplasmosis, leishmaniosis y tripanosomiasis y c) cáncer de hígado o metástasis en el hígado.

25 En el presente documento se describen oligonucleótidos, conjugados de oligonucleótidos o composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos seleccionados de infecciones víricas o parasitosis. Como se describe en el presente documento, la enfermedad se selecciona de a) infecciones víricas del hígado tales como infecciones por el VHB, el VHC y el VHD; b) parasitosis tales como malaria, toxoplasmosis, leishmaniosis y tripanosomiasis y c) cáncer de hígado o metástasis en el hígado.

30 La enfermedad o trastorno, como se hace referencia en el presente documento, se asocia con agotamiento inmunitario. En particular, la enfermedad o trastorno se asocia con el agotamiento de las respuestas de los linfocitos T específicos del virus. Como se describe en el presente documento, la enfermedad o trastorno se puede aliviar o tratar mediante la reducción de la expresión de PD-L1.

35 Los procedimientos de la invención se emplean preferentemente para el tratamiento o la profilaxis frente a enfermedades asociadas a agotamiento inmunitario.

40 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido, el conjugado de oligonucleótidos o las composiciones farmacéuticas de la invención se usan en el restablecimiento de la respuesta inmunitaria contra un cáncer de hígado o metástasis en el hígado.

45 Como se describe en el presente documento, el oligonucleótido, el conjugado de oligonucleótidos o las composiciones farmacéuticas de la invención se usan en el restablecimiento de la respuesta inmunitaria contra un patógeno. Como se describe en el presente documento, el patógeno se puede encontrar en el hígado. Los patógenos pueden ser un virus o un parásito, en particular los descritos en el presente documento. En un modo de realización preferente, la enfermedad es el VHB.

50 En el presente documento se describe el uso de un oligonucleótido, un conjugado de oligonucleótidos o una composición farmacéutica como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para el restablecimiento de la inmunidad contra una infección vírica o una parasitosis como se menciona en el presente documento.

55 Los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar en el tratamiento de infecciones víricas, en particular infecciones víricas en el hígado donde la vía de PD-1 se ve afectada (véase, por ejemplo, Kapoor y Kottlilil 2014 Future Virol Vol. 9 págs. 565-585 y Salem y El-Badawy 2015 World J Hepatol Vol.7 págs. 2449-2458). Las infecciones víricas del hígado se pueden seleccionar del grupo que consiste en las infecciones por los virus de la hepatitis, en particular el VHB, el VHC y el VHD, en particular formas crónicas de estas infecciones. En un modo de realización, los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se usan para tratar la infección por el VHB, en particular la infección crónica por el VHB. Los indicadores de infecciones crónicas por el VHB son niveles altos de carga vírica (ADN del VHB) e incluso niveles mayores de partículas vacías de HBsAg (>100 veces más de viriones) en la circulación.

65 Los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos de la presente invención también se pueden usar para tratar

infecciones víricas del hígado que se producen como coinfecciones con el VIH. Otras infecciones víricas que se pueden tratar con oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos o composiciones farmacéuticas de la presente invención son las infecciones por el VCML (virus de la coriomeningitis linfocítica) y por el VIH como mono infección, la infección por el HSV-1 y -2 y otros herpesvirus. Estos virus no son hepatotróficos; sin embargo, pueden ser sensibles a la regulación por disminución de PDL1.

En algunos modos de realización, el restablecimiento de la inmunidad o la respuesta inmunitaria implica la mejora de la respuesta de los linfocitos T y/o linfocitos NK y/o el alivio del agotamiento de los linfocitos T, en particular la respuesta de los linfocitos T específicos del VHB, la respuesta de los linfocitos T específicos del VHC o la respuesta de los linfocitos T específicos del VHD. Una mejora de la respuesta de los linfocitos T se puede evaluar, por ejemplo, como un incremento de los linfocitos T en el hígado, en particular un incremento de los linfocitos T CD8+ y/o CD4+ en comparación con un control (por ejemplo, el nivel antes del tratamiento o el nivel en un sujeto tratado con vehículo). En otro modo de realización, son los linfocitos T CD8+ específicos del virus los que se restablecen o incrementan en comparación con el control, en particular los linfocitos T CD8+ específicas del VHB o los linfocitos T CD8+ específicos del VHC o los linfocitos T CD8+ específicos del VHD se restablecen o incrementan en comparación con el control. En un modo de realización preferente, los linfocitos T CD8+ específicos para el antígeno s del VHB (HBsAg) y/o los linfocitos T CD8+específicos para el antígeno e del VHB (HBeAg) y/o los linfocitos T CD8+específicos para el antígeno central del VHB (HBcAg) se incrementan en sujetos tratados con un oligonucleótido, conjugado de oligonucleótidos o composición farmacéutica de la presente invención en comparación con el control. Preferentemente, los linfocitos T CD8+ específicos para el antígeno del VHB producen una o más citocinas, tales como interferón-gamma (IFN- γ) o factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). El incremento de los linfocitos T CD8+ descrito anteriormente se observa en particular en el hígado. El incremento descrito en el presente documento debería ser estadísticamente significativo en comparación con un control. Preferentemente, el incremento es de al menos un 20 %, tal como un 25 %, tal como un 50 %, tal como un 75 % en comparación con el control. En otro modo de realización, los linfocitos citolíticos naturales (NK) y/o los linfocitos T citolíticos naturales (NKT) también se activan por los oligonucleótidos y conjugados de oligonucleótidos de la presente invención.

Los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar en el tratamiento de parasitosis, en particular parasitosis en las que la vía de PD-1 se ve afectada (véase, por ejemplo, Bhadra et al. 2012 J Infect Dis vol 206 págs. 125-134; Bhadra et al. 2011 Proc Natl Acad Sci USA Vol.108 págs. 9196-9201; Esch et al. J Immunol vol 191 págs. 5542-5550; Freeman y Sharpe 2012 Nat Immunol Vol 13 págs. 113-115; Gutierrez et al. 2011 Infect Immun Vol 79 págs. 1873-1881; Joshi et al. 2009 PLoS Pathog Vol 5 e1000431; Liang et al. 2006 Eur J Immunol Vol. 36 págs. 58-64; Wykes et al. 2014 Front Microbiol Vol 5 págs. 249). Las parasitosis se pueden seleccionar del grupo que consiste en malaria, toxoplasmosis, leishmaniosis y tripanosomiasis. La malaria está provocada por protozoos del género *Plasmodium*, en particular de las especies *P. vivax*, *P. malariae* y *P. falciparum*. La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria provocada por *Toxoplasma gondii*. La leishmaniosis es una enfermedad provocada por parásitos protozoarios del género *Leishmania*. La tripanosomiasis está provocada por el protozoo del género *Trypanosoma*. La enfermedad de Chagas, que es la forma tropical provocada por la especie *Trypanosoma cruzi*, y la enfermedad del sueño está provocada por la especie *Trypanosoma brucei*.

En algunos modos de realización, el restablecimiento de la inmunidad implica el restablecimiento de una respuesta de los linfocitos T y los linfocitos NK específicos del parásito, en particular una respuesta de los linfocitos T específicos de *Plasmodium*, una respuesta de los linfocitos T y los linfocitos NK específicos de *Toxoplasma gondii*, una respuesta de los linfocitos T y los linfocitos NK específicos de *Leishmania*, una respuesta de los linfocitos T y los linfocitos NK específicos de *Trypanosoma cruzi* o una respuesta de los linfocitos T y los linfocitos NK específicos de *Trypanosoma brucei*. En otro modo de realización, lo que se restablece es la respuesta de los linfocitos T CD8+ y los linfocitos NK específicos del parásito.

Administración

Los oligonucleótidos o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar por vía tópica (tal como en la piel, por inhalación, oftálmica u ótica) o enteral (tal como por vía oral o a través del tubo gastrointestinal) o parenteral (tal como intravenosa, subcutánea, intramuscular, intracerebral, intracerebroventricular o intratecal).

En un modo de realización preferente, el oligonucleótido o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administran por vía parenteral que incluye inyección o infusión intravenosa, intrarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular, administración intratecal o intracraneal, por ejemplo intracerebral o intraventricular, intravítrea. En un modo de realización, el oligonucleótido o el conjugado de oligonucleótidos activo se administra por vía intravenosa. En otro modo de realización, el oligonucleótido o el conjugado de oligonucleótidos activo se administra por vía subcutánea.

En algunos modos de realización, el oligonucleótido, el conjugado de oligonucleótidos o la composición farmacéutica de la invención se administra a una dosis de 0,1 - 15 mg/kg, tal como de 0,1 - 10 mg/kg, tal como de 0,2-10 mg/kg, tal como de 0,25 - 10 mg/kg, tal como de 0,1 - 5 mg/kg, tal como de 0,2 - 5 mg/kg, tal como de 0,25 - 5 mg/kg. La administración puede ser una vez a la semana, cada 2.^a semana, cada tercera semana o incluso una vez al mes.

Politerapias

En algunos modos de realización, el oligonucleótido, el conjugado de oligonucleótidos o la composición farmacéutica de la invención es para su uso en un tratamiento de combinación con otro agente terapéutico. El agente terapéutico puede ser, por ejemplo, el tratamiento de referencia contra las enfermedades o trastornos descritos anteriormente.

Para el tratamiento de infecciones crónicas por el VHB, se recomienda una combinación de fármacos antivíricos y moduladores del sistema inmunitario como tratamiento de referencia. Los fármacos antivíricos eficaces contra el VHB son, por ejemplo, análogos nucleos(t)ídicos. Hay cinco análogos nucleos(t)ídicos autorizados para el tratamiento de la infección por el VHB, a saber, lamivudina (Epivir), adefovir (Hepsera), tenofovir (Viread), telbivudina (Tyzeka), entecavir (Baraclude), que son eficaces para inhibir la replicación vírica (ADN del VHB) pero no tienen ningún efecto sobre los niveles de HBsAg. Otros fármacos antivíricos incluyen ribavirina y un tratamiento con anticuerpos contra el VHB (monoclonales o policlonales). Los moduladores del sistema inmunitario pueden ser, por ejemplo, interferón alfa-2a e interferón PEGilado alfa-2a (Pegasys) o agonistas de TLR7 (por ejemplo, GS-9620) o vacunas terapéuticas. El tratamiento con IFN- α muestra solo un efecto muy modesto en la reducción de la carga vírica, pero da como resultado cierta disminución del HBsAg, aunque muy ineficazmente (<10 % después de 48 semanas de tratamiento).

Los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos de la presente invención también se pueden combinar con otros fármacos antivirales eficaces contra el VHB, tales como los oligonucleótidos antisentido descritos en los documentos WO2012/145697 y WO2014/179629 o las moléculas de ARNip descritas en los documentos WO2005/014806, WO2012/024170., WO2012/2055362, WO2013/003520 y WO2013/159109.

Cuando los oligonucleótidos o conjugados de oligonucleótidos de la presente invención se administran en politerapias con otros agentes, se pueden administrar de forma secuencial o concurrente a un individuo. De forma alternativa, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención pueden estar compuestas por una combinación de un oligonucleótido o conjugado de oligonucleótidos de la presente invención en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, como se describe en el presente documento, y otro agente terapéutico o profiláctico conocido en la técnica.

EJEMPLOS

Materiales y procedimientos

Secuencias de motivos y compuestos oligonucleotídicos

Tabla 5: lista de secuencias de motivos de oligonucleótidos (indicadas por SEQ ID NO) dirigidos al transcrito del PD-L1 humano (SEQ ID NO: 1), diseños de estos, así como compuestos de oligonucleótidos antisentido específicos (indicados por CMP ID NO) diseñados en base a la secuencia de motivos.

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
5	taattggctctactgc	2-11-3	TAattggctctacTGC	5_1	236	-20
6	tgcataagaatgact	4-10-2	TCGCataagaatgaCT	6_1	371	-19
7	tgaacacacagtcgca	2-12-2	TGaacacacagtcgCA	7_1	382	-19
8	ctgaacacacagtcgc	3-10-3	CTGaacacacagtcGC	8_1	383	-22
9	tctgaacacacagtcg	3-11-2	TCTgaacacacagtcCG	9_1	384	-19
10	ttctgaacacacagtc	3-11-2	TTCTgaacacacagtcTC	10_1	385	-17
11	acaagtcattgtaacta	2-11-3	ACAagtcattgtaactA	11_1	463	-16
12	acacaagtcattgttac	2-12-2	ACacaagtcattgttacAC	12_1	465	-14
13	cttacttagatgctgc	2-11-3	CTtacttagatgctTGC	13_1	495	-20
14	acttacttagatgctg	2-11-3	ACTtacttagatgctGTG	14_1	496	-18
15	gacttacttagatgct	3-11-2	GACTtacttagatgctCT	15_1	497	-19
16	agacttacttagatgc	2-11-3	AGacttacttagatgcTGC	16_1	498	-18
17	gcaggaagagacttac	3-10-3	GCaggaagagacttacTAC	17_1	506	-20
18	aataaattccggtcagg	4-9-4	AATAaattccggtcaggCAGG	18_1	541	-22
19	gcaataaattccggtt	3-10-3	GCAataaattccggttGTT	19_2	545	-18

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
19	gcaaataaattccggt	4-8-4	GCAAataaattcCGTT	19_1	545	-20
20	agcaaataaattccgt	4-9-3	AGCAataaattcCGT	20_1	546	-20
21	cagagcaaataaattcc	4-10-3	CAGAgcaaataaattCC	21_1	548	-21
22	tggacagagcaaataaat	4-11-3	TGGAcagagcaaataAAT	22_1	551	-19
23	atggacagagcaaata	4-8-4	ATGGacagagcaAATA	23_1	554	-20
24	cagaatggacagagca	2-11-3	CAgaatggacagaGCA	24_1	558	-21
25	ttctcagaatggacag	3-11-2	TTctcagaatggacAG	25_1	562	-17
26	ctgaacttgacatag	4-8-4	CTGAacttgacATAG	26_1	663	-20
27	aagacaaaccagactga	2-13-3	AAgacaaaccagacTGA	27_1	675	-21
28	tataagacaaaccagac	4-10-4	TATAagacaaaccAGAC	28_1	678	-22
29	ttataagacaaaccaga	4-10-4	TTATAagacaaaccAGA	29_1	679	-23
30	tggtataagacaaacc	4-10-3	TGTTataagacaaaCCC	30_1	682	-22
31	tagaacaatggtacttt	4-9-4	TAGAacaatggtactTTT	31_1	708	-20
32	gtagaacaatggtact	4-10-2	GTAGAacaatggtactCT	32_1	710	-19
33	aggtagaacaatggtact	3-10-3	AGGtagaacaatggtactGTA	33_1	712	-19
34	aagaggtagaacaatgg	4-9-4	AAGAggtagaacaATGG	34_1	714	-21
35	gcatccacagtaaatt	2-12-2	GCatccacagtaaattTT	35_1	749	-17
36	gaagggtatttaattc	2-11-3	GAagggtatttaattcTTC	36_1	773	-13
37	ctaatcgaatgcagca	4-9-3	CTAatcgaatgcagcaGCA	37_1	805	-22
38	taccaatctaataoga	3-10-3	TACcaatctaataogaCGA	38_1	813	-20
39	tagttaccaatctaa	3-10-3	TAGttaccaatctaaTAA	39_1	817	-19
40	catttagttaccaat	3-10-3	CATtagttaccaatAAT	40_1	821	-18
41	tcatttagttaccxaa	3-10-3	TCatttagttaccxaaCAA	41_1	822	-19
42	ttcatttagttaccxaa	2-10-4	TTcatttagttaccxaaCCCA	42_1	823	-22
43	gaattaattcatttagt	4-10-4	GAATtaattcatttagtTAGT	43_1	829	-19
44	cagtgaggaattaattt	4-9-4	CAGTgaggaattaatttATTT	44_1	837	-20
45	ccaacagtgaggaatt	4-8-4	CCAacagtgaggaattAATT	45_1	842	-21
46	ccaacagtgaggaat	3-10-3	CCAacagtgaggaatAAT	46_1	843	-22
47	tataccaacagtgagg	2-12-3	TAtaccaacagtgaggAGG	47_1	846	-21
48	ttataccaacagtggag	2-11-4	TTataccaacagtggagTGAG	48_1	847	-21
49	tttataccaacagtgga	3-11-3	TTTataccaacagtggaTGA	49_1	848	-21
50	cctttataccaacag	3-10-3	CCTttataccaacagCAG	50_1	851	-23
51	taacctttataccxaa	4-8-4	TAAcctttataccxaaCAA	51_1	854	-22
52	aataacctttataccxaa	3-10-4	AATAacctttataccxaaCCCA	52_1	855	-23
53	gtaaataacctttata	3-11-2	GTAaataacctttataTA	53_1	859	-14
54	actgtaaataacctttat	4-10-4	ACTGtaaataacctttatTTAT	54_1	860	-20
55	atatatatgcaatgag	3-11-2	ATAtatatgcaatgagAG	55_1	903	-14
56	agatatatatgcaatg	2-12-2	AGatatatatgcaatgTG	56_1	905	-12
57	gagatatatatgcaat	3-10-3	GAGatatatatgcaatAAT	57_1	906	-15
58	ccagagatatatatgc	2-11-3	CCaagagatatatatgcTGC	58_1	909	-19
59	caatattccagagatat	4-9-4	CAATattccagagatatATAT	59_1	915	-20
60	gcaatattccagagata	4-10-3	GCAATattccagagataATA	60_1	916	-22

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
61	agcaatattccagagat	3-11-3	AGCaatattccagaGAT	61_1	917	-22
62	cagcaatattccagag	3-9-4	CAGcaatattccAGAG	62_1	919	-22
63	aatcagcaatattccag	4-9-4	AATCagcaatattCCAG	63_1	921	-23
64	acaatcagcaatattcc	4-9-4	ACAAtcagcaataTTCC	64_1	923	-21
65	actaagtagttacacttct	2-14-3	ACtaagtagttacactTCT	65_1	957	-20
66	ctaagtagttacacttc	4-11-2	CTAagtagttacactTC	66_1	958	-18
67	gactaagtagttacactt	3-12-3	GACTaagtagttacaCTT	67_1	959	-20
68	tgactaagtagttaca	3-9-4	TGActaagtagtTACA	68_1	962	-19
69	ctttgactaagtagtta	4-10-3	CTTTgactaagtagTTA	69_1	964	-19
70	ctctttgactaagtag	3-10-3	CTCtttgactaagTAG	70_1	967	-19
71	gctctttgactaagta	4-10-2	GCTCtttgactaagTA	71_1	968	-21
72	ccttaaatactgttgac	2-11-4	CCttaaatactgtTGAC	72_1	1060	-20
73	cttaaatactgttgac	2-12-2	CTtaaatactgttgAC	73_1	1060	-13
74	tccttaaatactgttg	3-10-3	TCCttaaatactgTTG	74_1	1062	-18
75	tctccttaaatactgitt	4-11-2	TCTCcttaaatactgTT	75_1	1063	-19
76	tatcatagttctcctt	2-10-4	TAtcatagttctCCTT	76_1	1073	-21
77	agtatcatagttctcc	3-10-3	AGTatcatagttcTCC	77_1	1075	-22
78	gagtatcatagttctc	2-11-3	GAGtatcatagttCTC	78_1	1076	-18
79	agagtatcatagttct	2-10-4	AGagtatcatagTTCT	79_1	1077	-18
79	agagtatcatagttct	3-10-3	AGAgatcatagttTCT	79_2	1077	-19
80	cagagtatcatagttc	3-10-3	CAGagtatcatagTTC	80_1	1078	-18
81	ttcagagtatcatagt	4-10-2	TTCagagtatcataGT	81_1	1080	-18
82	cttcagagtatcatag	3-9-4	CTTcagagtatcATAG	82_1	1081	-19
83	ttcttcagagtatcata	4-11-2	TTCTcagagtatcaTA	83_1	1082	-19
84	tittcttcagagtatcat	3-10-4	TTTcttcagagtaTCAT	84_1	1083	-20
85	gagaaaggctaagttt	4-9-3	GAGAAaggctaagTTT	85_1	1099	-19
86	gacactcttgtaacatt	2-10-4	GAcactcttgtaCATT	86_1	1213	-19
87	tgagacactcttgtaaca	2-13-2	TGagacactcttgtaCA	87_1	1215	-18
88	tgagacactcttgtaac	2-11-3	TGagacactcttgTAC	88_1	1216	-18
89	ctttattaactccat	2-10-4	CTttattaactCCAT	89_1	1266	-18
90	accaaactttattaata	4-10-2	ACCAaactttattaAA	90_1	1272	-14
91	aaaccttactaagtg	4-10-2	AAACcttactaagTG	91_1	1288	-16
92	agattaagacagttga	2-11-3	AGattaagacagttGA	92_1	1310	-16
93	aagtaggagcaagagggc	2-12-3	AAgtaggagcaagaGGC	93_1	1475	-22
94	aaagtaggagcaagaggg	4-10-3	AAAGtaggagcaagAGG	94_1	1476	-20
95	gtaagcagccaggag	2-12-2	GTaagcagccaggAG	95_1	1806	-20
96	agggtaggatgggtag	2-12-2	AGggtaggatgggtAG	96_1	1842	-20
97	aagggtaggatgggta	3-11-2	AAgggtaggatgggTA	97_1	1843	-20
98	caagggtaggatgggt	2-12-2	CAagggtaggatggGT	98_2	1844	-20
98	caagggtaggatgggt	3-11-2	CAAgggtaggatggGT	98_1	1844	-21
99	ccaagggtaggatggg	2-12-2	CCaagggtaggatgGG	99_1	1845	-22
100	tccaagggtaggatgg	2-12-2	TCCAagggtaggatGG	100_1	1846	-20

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
101	ctccaagggtaggat	4-10-2	CTTCcaagggtaggAT	101_1	1848	-21
102	atctccaagggtagga	3-12-2	ATCtccaagggtagGA	102_1	1849	-22
103	agaagtgatggctcatt	2-11-4	AGaagtgatggcIcATT	103_1	1936	-21
104	aagaagtgatggctcat	3-10-4	AAGaagtgatggcTCAT	104_1	1937	-21
105	gaagaagtgatggctca	3-11-3	GAAgaagtgatggcTCA	105_1	1938	-21
106	atgaaatgaaactggg	4-9-4	ATGAaatgaaacTGGG	106_1	1955	-21
107	caatgaaatgaaactgg	4-10-4	CAATgaaatgaaaCTGG	107_1	1956	-20
108	gcaatgaaatgaaactg	4-10-4	GCAATgaaatgaaACTG	108_1	1957	-20
109	agcaatgaaatgaaact	4-10-4	AGCAatgaaatgaaAACT	109_1	1958	-20
110	gagcaatgaaatgaaac	4-10-4	GAGCaatgaaatgAAAC	110_1	1959	-19
111	tgaattcccatatccga	2-12-3	TGaattcccatatcCGA	111_1	1992	-22
112	agaattatgaccatal	2-11-3	AGaattatgaccaTAT	112_1	2010	-15
113	aggtaagaattatgacc	3-10-4	AGGtaagaattatGACC	113_1	2014	-21
114	tcaggtagaattatgac	4-10-4	TCAGgtaagaattaTGAC	114_1	2015	-22
115	cttcaggtagaattatg	4-10-4	CTTCaggtagaatTATG	115_1	2017	-21
116	tcttcaggtagaatta	4-9-4	TCTTcaggtagaATTA	116_1	2019	-20
117	cttcttcaggtagaat	4-9-4	CTTCTtcaggtaaGAAT	117_1	2021	-21
118	tcttcttcaggtaga	4-10-3	TCTTcttcaggtaaGAA	118_1	2022	-20
119	tcttcttcaggtaga	3-10-3	TCTtcttcaggtaaAGA	119_1	2023	-20
120	tggtctaagagagaag	3-10-4	TGGTctaagagaaGAAG	120_1	2046	-20
121	gttggtctaagagagaag	4-9-3	GTTGgtctaagagAAG	121_1	2049	-19
123	cagttggtctaagagaa	2-11-4	CAGttggtctaagAGAA	123_1	2050	-20
124	gcagttggtctaagagaa	3-13-2	GcAGttggtctaagagAA	124_1	2050	-22
122	agttggtctaagagaa	3-9-4	AGTtgggtctaagAGAA	122_1	2050	-20
126	gcagttggtctaagaga	2-13-2	GcagttggtctaagaGA	126_1	2051	-21
125	cagttggtctaagaga	4-10-2	CAGTtgggtctaagaGA	125_1	2051	-21
127	gcagttggtctaagag	2-11-3	GcagttggtctaaGAG	127_1	2052	-21
128	ctcatatcagggcagt	2-10-4	CTcatatcagggcAGT	128_1	2063	-24
129	cacacatgttcttaac	4-11-2	CACAcatgttcttaAC	129_1	2087	-18
130	taaatacacacatgttct	3-11-4	TAAatacacacatgTTCT	130_1	2092	-19
131	gtaaatacacacatgttc	4-11-3	GTAaatacacacatgTTC	131_1	2093	-19
132	tgtaaatacacacatgtt	4-10-4	TGTAaatacacacaTGTT	132_1	2094	-22
133	gatcatgtaaatacacac	4-10-4	GATCatgtaaataCACAC	133_1	2099	-20
134	agatcatgtaaatacaca	4-10-4	AGATcatgtaaataCACAC	134_1	2100	-21
135	caaagatcatgtaaatacac	4-12-4	CAAagatcatgtaaataCACAC	135_1	2101	-19
136	acaagatcatgtaaatacaca	4-12-4	ACAagatcatgtaaataTACA	136_1	2102	-20
137	gaatacaaaagatcatgta	4-10-4	GAATacaaagatcaTGTA	137_1	2108	-20
138	agaatacaaaagatcatgt	4-10-4	AGAAatacaaaagatcATGT	138_1	2109	-20
139	cagaatacaaaagatcatg	4-10-4	CAGAatacaaaagatCATG	139_1	2110	-21
140	gcagaatacaaaagatca	4-9-4	GcAGAatacaaaagATCA	140_1	2112	-22
141	aggcagaatacaaaagat	4-11-2	AGGCagaatacaaaagAT	141_1	2114	-19
142	aaggcagaatacaaaaga	4-10-3	AAGGcagaatacaaaAGA	142_1	2115	-19

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
143	attagtgagggacgaa	3-10-3	ATTagtgagggacGAA	143_1	2132	-18
144	cattagtgagggacga	2-11-3	CAttagtgagggacGA	144_1	2133	-20
145	gagggatgatggattag	2-11-3	GAgggatgatggatTAG	145_1	2218	-19
146	ttaggagtaataaagg	2-10-4	TTaggagtaataAAGG	146_1	2241	-14
147	ftaatgaattgggtg	3-11-2	TTAatgaattgggTG	147_1	2263	-13
148	ctttaatgaattggt	2-12-2	CTTaatgaattgGT	148_1	2265	-14
149	catggattacaactaa	4-10-2	CATGgattacaactAA	149_1	2322	-16
150	tcatggattacaacta	2-11-3	TCatggattacaactA	150_1	2323	-16
151	gtcatggattacaact	3-11-2	GTCatggattacaactCT	151_1	2324	-18
152	cattaaatctagtc	2-10-4	CAttaaactctagTCAT	152_1	2335	-16
153	gacattaaatctagtc	4-10-3	GACAttaaactctagTCA	153_1	2336	-19
154	agggacattaaatcta	4-10-2	AGGGacattaaatcTA	154_1	2340	-18
155	caaagcattataacca	4-9-3	CAAagcattataaCCA	155_1	2372	-18
156	acttactaggcagaag	2-10-4	ACTtactaggcaGAAG	156_1	2415	-19
157	cagagttaactgtaca	4-10-2	CAGAgttaactgtacaCA	157_1	2545	-20
158	ccagagttaactgtac	4-10-2	CCAGagttaactgtacAC	158_1	2546	-20
159	gccagagttaactgta	2-12-2	GCCagagttaactgtaTA	159_1	2547	-20
160	tggccagagttaact	2-12-2	TGGccagagttaactCT	160_1	2550	-21
161	cagcatctacagact	2-12-2	CAGcatctacagaCT	161_1	2576	-19
162	tgaataacatgagtc	3-11-4	TGAataacatgagTCAT	162_1	2711	-19
163	gtgaataacatgagtc	3-10-4	GTGAataacatgAGTC	163_1	2713	-19
164	tctgtttatgtcactg	4-10-2	TCTgtttatgtcacTG	164_1	2781	-20
165	gtctgtttatgtcact	4-10-2	GTCgtttatgtcaCT	165_1	2782	-22
166	tggctgtttatgtca	2-10-4	TGGctgtttatGTCA	166_1	2784	-21
167	ttggtctgtttatgtc	4-10-2	TTGGtctgtttatgTC	167_1	2785	-20
168	tcaccattgtttaa	2-12-2	TCaccattgtttaaAA	168_1	2842	-15
169	tcagcaaataatcgt	2-10-4	TCagcaaataatTCGT	169_1	2995	-17
170	gtgtgttcagcaaata	3-10-4	GTGgttcagcaaATAT	170_1	2999	-21
171	tctattgttaggtatc	3-10-3	TCTattgttaggtATC	171_1	3053	-18
172	attgcccatcttactg	2-12-2	ATTgcccatcttactTG	172_1	3118	-19
173	tattgcccatcttact	3-11-2	TATTgcccatcttactCT	173_1	3119	-21
174	aaatattgcccatctt	2-11-3	AAatattgcccatCTT	174_1	3122	-17
175	ataaccttatcataca	3-11-2	ATAaccttatcataCA	175_1	3174	-16
176	tataaccttatcatcac	2-11-3	TAtaccttatcatTAC	176_1	3175	-14
177	ttataaccttatcata	3-11-2	TTAtaccttatcatTA	177_1	3176	-14
178	ttataaccttatcat	3-10-3	TTTataaccttatCAT	178_1	3177	-16
179	actgctattgctatct	2-11-3	ACTgctattgctatCT	179_1	3375	-19
180	aggactgctattgcta	2-11-3	AGgactgctattgCTA	180_1	3378	-21
181	gaggactgctattgct	3-11-2	GAGgactgctattgCT	181_1	3379	-22
182	acgtagaataataaca	2-12-2	ACgtagaataataaCA	182_1	3561	-11
183	ccaagtgatataatgg	2-10-4	CCAagtgatataATGG	183_1	3613	-19

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
184	ttagcagaccaagtga	2-10-4	TTagcagaccaaGTGA	184_1	3621	-21
185	glttagcagaccaagt	2-12-2	GTtagcagaccaaGT	185_1	3623	-19
186	tgacagtgattataitt	2-12-2	TGacagtgattataTT	186_1	3856	-13
187	tgccaagatattgac	4-10-2	TGTCcaagatattgAC	187_1	3868	-18
188	gaatatacctagattgt	3-10-3	GAAtatacctagatTGT	188_1	4066	-18
189	caaactgagaataatcc	2-11-3	CAaactgagaataTCC	189_1	4074	-16
190	gcaaactgagaatatac	3-11-2	GCAaactgagaataTC	190_1	4075	-16
191	tcctattacaatcgta	3-11-2	TCCtattacaatcgTA	191_1	4214	-19
192	ttcctattacaatcgt	4-10-2	TTCCtattacaatcGT	192_1	4215	-19
193	actaatgggaggattt	2-12-2	ACTaatgggaggatTT	193_1	4256	-15
194	tagttcagagaataag	2-12-2	TAgttcagagaataAG	194_1	4429	-13
195	taacatatagttcaga	2-11-3	TAacatatagttcAGA	195_1	4436	-15
196	ataacatatagttcag	3-11-2	ATAacatatagttcAG	196_1	4437	-14
197	cataacatatagttca	2-12-2	CAtaacatatagttCA	197_1	4438	-13
198	tcataacatatagttc	2-12-2	TCataacatatagtTC	198_1	4439	-12
199	tagctcctaacaatca	4-10-2	TAGCtctaacaatCA	199_1	4507	-22
200	ctccaatctttgtata	4-10-2	CTCCaatctttgtATA	200_1	4602	-20
201	tcccaatctttgtat	4-10-2	TCTCcaatctttgtAT	201_1	4603	-19
202	tctatttcagccaatc	2-12-2	TCtatttcagccaaTC	202_1	4708	-17
203	cggaagtcagagtgaa	3-10-3	CGGaagtcagagtGAA	203_1	4782	-19
204	ttaagcatgaggaata	4-10-2	TTAagcatgaggaaTA	204_1	4798	-16
205	tgattgagcacctctt	3-10-3	TGAttgagcacctCTT	205_1	4831	-22
206	gactaattatttcggt	3-11-2	GACTaattatttcgTT	206_1	4857	-15
207	tgactaattatttcgt	3-10-3	TGActaattatttcCGT	207_1	4858	-17
208	gtgactaattatttcg	3-10-3	GTGactaattatttcCG	208_1	4859	-17
209	ctgcttgaatgtgac	4-10-2	CTGcttgaatgtgAC	209_1	4870	-20
210	cctgcttgaatgtga	2-11-3	CCtgcttgaatgtTGA	210_1	4871	-21
211	atcctgcttgaatgt	2-10-4	ATcctgcttgaatGT	211_1	4873	-20
212	attataaatctattct	3-10-3	ATTataaatctatTCT	212_1	5027	-13
213	gctaaatactttcacc	2-11-3	GCtaaatactttcATC	213_1	5151	-16
214	cattgtaacataccta	2-10-4	CAttgtaacataCCTA	214_1	5251	-19
215	gcattgtaacatacct	2-12-2	GCattgtaacatacCT	215_1	5252	-18
216	taatattgcaccaa	2-12-2	TAatattgcaccaaAT	216_1	5295	-13
217	gataatattgcaccaa	2-11-3	GAtaatattgcacCAA	217_1	5297	-16
218	agataatattgcacca	2-12-2	AGataatattgcacCA	218_1	5298	-16
219	gccagaagataaatat	2-10-4	GCcagaagataATAT	219_1	5305	-17
220	cacagccacataaaact	4-10-2	CACagccacataaaaCT	220_1	5406	-21
221	ttgtaattgtggaaac	2-12-2	TTgtaattgtggaaAC	221_1	5463	-12
222	tgacttgaattgtgg	2-11-3	TGacttgaattgtGG	222_1	5467	-18
223	tctaactgaaatagtc	2-12-2	TCTaactgaaatagTC	223_1	5503	-13
224	gtggttctaactgaaa	3-11-2	GTGgttctaactgAAA	224_1	5508	-16
225	caatatgggacttggt	2-12-2	CAatatgggacttgGT	225_1	5522	-18

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
226	atgacaatatgggact	3-11-2	ATGacaatatgggaCT	226_1	5526	-17
227	tatgacaatatgggac	4-10-2	TATGacaatatgggAC	227_1	5527	-17
228	atatgacaatatggga	4-10-2	ATATgacaatatggGA	228_1	5528	-17
229	cttcacttaataatta	2-11-3	CTtcacttaataTTA	229_1	5552	-13
230	ctgcttcacttaataa	4-10-2	CTGcttcacttaataAA	230_1	5555	-18
231	aagactgcttcactta	2-11-3	AAgactgcttcacTTA	231_1	5559	-17
232	gaatgccctaattaatg	4-10-2	GAATgccctaattaTG	232_1	5589	-19
233	tggaatgccctaatta	3-11-2	TGGaatgccctaataTA	233_1	5591	-19
234	gcaaatgccagtaggt	3-11-2	GCAaatgccagtagGT	234_1	5642	-23
235	ctaattggaaggatttg	3-11-2	CTAattggaaggattTG	235_1	5673	-15
236	aatatagaacctaatg	2-12-2	AATatagaacctaaTG	236_1	5683	-10
237	gaaagaatagaatggt	3-10-3	GAAagaatagaatGTT	237_1	5769	-12
238	atgggtaatagattat	3-11-2	ATGggtaatagattAT	238_1	5893	-15
239	gaaagagcacagggtg	2-12-2	GAAagagcacagggTG	239_1	6103	-18
240	ctacatagagggaaatg	4-10-2	CTACatagagggaaTG	240_1	6202	-18
241	gcttctacatagagg	2-10-4	GCTtctacataGAGG	241_1	6207	-24
242	tgcttctacatagag	4-10-2	TGCTtctacatagAG	242_1	6208	-22
243	tgggcttgaatatgt	2-11-3	TGggcttgaataTGT	243_1	6417	-19
244	cattatatttaagaac	3-11-2	CATTatatttaagaAC	244_1	6457	-11
245	tcggttatgtatcat	2-10-4	TCggttatgttaTCAT	245_1	6470	-19
246	cactttatctggtcgg	2-10-4	CActttatctggTCGG	246_1	6482	-22
247	aaattggcacagcggt	3-10-3	AAAttggcacagcGTT	247_1	6505	-18
248	accgtgacagtaaattg	4-9-3	ACCGtgacagtaaATG	248_1	6577	-20
249	tggaaccgtgacagta	2-13-2	TGggaaccgtgacagTA	249_1	6581	-22
250	ccacataggttcctt	2-11-3	CCacataggttcCTT	250_1	6597	-21
251	catattgctaccatac	2-11-3	CAtattgctaccaTAC	251_1	6617	-18
252	tcatattgctaccata	3-10-3	TCAtattgctaccATA	252_1	6618	-19
253	caattgtcatattgct	4-8-4	CAAttgtcatatTGCT	253_1	6624	-21
254	caftcaattgtcatattg	3-12-3	CATcaattgtcataTTG	254_1	6626	-18
255	tttctactgggaatttg	4-9-4	TTTctactgggaaTTTG	255_1	6644	-20
256	caattagtcagccag	3-10-3	CAAttagtcagcCAG	256_1	6672	-21
257	gaataatgttctatcc	4-10-3	GAATaatgttcttaTCC	257_1	6704	-20
258	cacaaattgaataatgtct	4-13-3	CACAAattgaataatgtTCT	258_1	6709	-20
259	catgcacaaattgaataat	4-11-4	CATGcacaaattgaaTAAT	259_1	6714	-20
260	atcctgcaatttccat	3-11-3	ATCctgcaatttcaCAT	260_1	6832	-22
261	ccaccatagctgatca	2-12-2	CCaccatagctgatCA	261_1	6868	-22
262	accaccatagctgatca	2-12-3	ACCaccatagctgaTCA	262_1	6868	-23
263	caccaccatagctgatc	2-13-2	CACCaccatagctgaTC	263_1	6869	-21
264	tagtcggcaccaccat	2-12-2	TAgtcggcaccaccAT	264_1	6877	-22
265	ctgttagtcggcaccac	1-14-2	CttgttagtcggcaccAC	265_1	6880	-21
266	ctgttagtcggcacca	1-13-2	CttgttagtcggcacCA	266_1	6881	-21
267	cgctttagtcggcac	2-12-2	CGctttagtcggcAC	267_1	6883	-21
268	tcaataaagatcagggc	3-11-2	TCAataaagatcagGC	268_1	6942	-17

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
269	tggacttacaagaatg	2-12-2	TGgacttacaagaaTG	269_1	6986	-14
270	atggacttacaagaat	3-11-2	ATGgacttacaagaAT	270_1	6987	-15
271	gctcaagaattggat	4-10-2	GCTCaagaattggAT	271_1	7073	-19
272	tactgtagaacatggc	4-10-2	TACTgtagaacatgGC	272_1	7133	-21
273	gcaattcattgatct	4-9-3	GCAAttcattgaTCT	273_1	7239	-20
274	tgaagggaggaggacac	2-14-2	TGaagggaggaggacAC	274_1	7259	-20
275	agtgggaagggaggag	2-13-2	AGtgggaagggaggAG	275_1	7265	-21
276	tagtgggaagggaggag	2-14-2	TAgtgggaagggaggAG	276_1	7265	-21
277	atagtgggaagggaggag	1-16-2	AtagtgggaagggaggAG	277_1	7265	-20
278	tagtgggaagggagga	2-13-2	TAgtgggaagggagGA	278_1	7266	-21
279	atagtgggaagggagga	2-14-2	ATagtgggaagggagGA	279_1	7266	-21
280	tagtgggaagggagg	3-11-2	TAGtgggaagggagG	280_1	7267	-21
281	atagtgggaagggagg	3-12-2	ATAgtgggaagggagG	281_1	7267	-22
282	gatagtgggaagggagg	2-14-2	GAtagtgggaagggagG	282_1	7267	-21
283	atagtgggaagggagg	4-10-2	ATAGtgggaagggagG	283_1	7268	-20
284	gatagtgggaagggagg	2-12-3	GAtagtgggaagggagG	284_1	7268	-21
285	gagatagtgggaagg	2-10-4	GAgatagtgggaagg	285_1	7271	-20
286	catgggagatagtgt	4-10-2	CATgggagatagtGT	286_1	7276	-22
287	acaaataatggtactct	4-10-4	ACAAataatggtactCT	287_1	7302	-20
288	acacacaaataatggtta	4-10-4	ACACacaaataatggtTA	288_1	7306	-20
289	gagggacacacaaataat	3-11-4	GAGggacacacaaataAT	289_1	7311	-21
290	atatagagaggctcaa	4-8-4	ATATagagaggctCAA	290_1	7390	-21
291	ttgatatagagaggct	2-10-4	TTgatatagagaGGCT	291_1	7393	-20
292	gcattgatatagaga	4-9-3	GCATtgatataGAGA	292_1	7397	-20
293	tttgcattgatatag	2-11-3	TTtgcattgataTAG	293_1	7400	-15
294	ctggaagaataggctc	3-11-2	CTGgaagaataggctC	294_1	7512	-17
295	actggaagaataggct	4-10-2	ACTGgaagaataggct	295_1	7513	-18
296	tactggaagaataggct	4-10-2	TACTggaagaataggct	296_1	7514	-18
297	tggcttatcctgtact	4-10-2	TGGcttatcctgtact	297_1	7526	-25
298	atggcttatcctgtac	2-10-4	ATggcttatcctgtac	298_1	7527	-22
299	tatggcttatcctgta	4-10-2	TATggcttatcctgta	299_1	7528	-22
300	gtatggcttatcctgt	3-10-3	GTatggcttatcctgt	300_1	7529	-23
301	atgaatatatgcccagt	2-11-4	ATgaatatatgcccagt	301_1	7547	-22
302	gatgaatatatgcccac	2-10-4	GATgaatatatgcccac	302_1	7549	-22
303	caagatgaatatatgcc	3-10-4	CAAGatgaatatatGCC	303_1	7551	-21
304	gacaacatcagtataga	4-9-4	GACAacatcagtaTAGA	304_1	7572	-22
305	caagacaacatcagta	4-8-4	CAAGacaacatcagta	305_1	7576	-20
306	cactcctagttcctt	3-10-3	CACtctagttcctTTT	306_1	7601	-22
307	aacactcctagttcct	3-10-3	AACactcctagttCCT	307_1	7603	-22
308	taacactcctagttcc	2-11-3	TAacactcctagttTCC	308_1	7604	-20
309	ctaacactcctagttc	2-12-2	CTaacactcctagttTC	309_1	7605	-18
310	tgataacataactgtg	2-12-2	TGataacataactgtG	310_1	7637	-13

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
311	ctgataacataactgt	2-10-4	CTgataacataaCTGT	311_1	7638	-18
312	tttgaactcaagtgac	4-10-2	TTTgaactcaagtgAC	312_1	7654	-16
313	tcctttacttagctag	4-9-3	TCCTttacttagcTAG	313_1	7684	-23
314	gagtttgattagctg	2-11-3	GAgtttgattagCTG	314_1	7764	-20
315	tgggatatgacagggga	2-11-3	TGgggatatgacagGGA	315_1	7838	-21
316	tgtgggatatgacagg	4-10-2	TGTgggatatgacaGG	316_1	7840	-22
317	atatggaagggatatac	4-10-2	ATATggaagggataTC	317_1	7875	-17
318	acaggatatggaaggg	3-10-3	ACAggatatggaGGG	318_1	7880	-21
319	attcaacaggatattg	4-9-4	ATTcaacaggatATGG	319_1	7885	-20
320	gagtaattcaacagg	2-11-3	GAgtaattcaacAGG	320_1	7891	-17
321	aggggagtaattcaaca	4-9-4	AGGGagtaattcAACA	321_1	7893	-22
322	attagggagtaattca	4-9-4	ATTAgggagtaatTTCA	322_1	7896	-21
323	cttactattaggaggt	2-10-4	CTtactattaggGAGT	323_1	7903	-20
324	cagcttactattaggg	2-11-3	CAGcttactattaGGG	324_1	7906	-20
326	attcagcttactattag	3-11-4	ATTcagcttactaTTAG	326_1	7908	-20
325	tcagcttactattag	3-10-3	TCAgcttactattAGG	325_1	7907	-20
327	ttcagcttactattag	2-10-4	TTcagcttactaTTAG	327_1	7908	-17
328	cagattcagcttact	4-10-2	CAGAttcagcttaCT	328_1	7913	-21
329	gactacaactagaggg	3-11-2	GACTacaactagagGG	329_1	7930	-19
330	agactacaactagagg	4-10-2	AGACTacaactagaGG	330_1	7931	-19
331	aagactacaactagag	2-12-2	AAGactacaactagAG	331_1	7932	-13
332	atgatttaattctagctaaa	4-12-4	ATGAtttaattctagctAAA	332_1	7982	-20
333	tttaattctagctaaa	3-10-3	TTTaaattctagctAAA	333_1	7982	-12
334	gatttaattctagctca	4-8-4	GATTtaattctaGTCA	334_1	7984	-20
771	tgatttaattctagctca	3-10-4	TGAtttaattctaGTCA	771_1	7984	-20
335	atgatttaattctagctca	4-11-3	ATGAtttaattctagTCA	335_1	7984	-20
336	gatgatttaattctagctca	4-13-2	GATGatttaattctagctCA	336_1	7984	-20
337	gatttaattctagctca	2-10-4	GAtttaattctaGTCA	337_1	7984	-18
338	gatgatttaattctagctc	4-11-3	GATGatttaattctaGTC	338_1	7985	-20
339	tgatttaattctagctc	2-12-2	TGatttaattctagTC	339_1	7985	-13
340	gagatgatttaattctca	4-9-4	GAGAtgatttaatTCTA	340_1	7988	-20
341	gagatgatttaattctct	3-10-3	GAGatgatttaatTCT	341_1	7989	-16
342	cagattgatggttagtt	4-10-2	CAGAttgatggttagTT	342_1	8030	-19
343	ctcagattgatggttag	2-10-4	CTcagattgatgGTAG	343_1	8032	-20
344	gtagccctcagattg	3-10-3	GTagccctcagaTTG	344_1	8039	-23
345	tgtattgtagccctc	2-10-4	TGtattgtagcCCTC	345_1	8045	-24
346	actgtattgtagcc	2-10-4	ACTgtattgtagGCC	346_1	8048	-22
347	agccagatcagggac	3-11-2	AGCcagatcagggAC	347_1	8191	-23
348	ttgacaatagtgcat	2-10-4	TTgacaatagtgGCAT	348_1	8213	-20
349	acaagtggtatctct	3-10-3	ACAagtggtatctTCT	349_1	8228	-19
350	aatctactttacaagt	4-10-2	AATCtactttacaGT	350_1	8238	-16
351	cacagtagatgacctgata	2-12-4	CACagtagatgacctGATA	351_1	8351	-24

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
352	gaacacagtagatgcc	2-11-3	GAacacagtagatGCC	352_1	8356	-21
353	cttgaacacagtagat	4-11-2	CTTgaacacagtagAT	353_1	8359	-20
354	atatcttgaacacag	3-10-3	ATAtcttgaacaCAG	354_1	8364	-18
355	tctttaatatcttgaac	3-11-4	TCTttaatatcttGAAc	355_1	8368	-19
356	tgatttctttaatatcttg	2-13-4	TGatttctttaatatCTTG	356_1	8372	-19
357	tgatgatttctttaatc	2-13-4	TGatgatttcttaaTATC	357_1	8375	-18
358	aggctaagtcatgatg	3-11-2	AGGctaagtcatgaTG	358_1	8389	-19
359	ttgatgaggctaagtc	4-10-2	TTGAtgaggctaagTC	359_1	8395	-19
360	ccaggattatactctt	3-11-2	CCAggattatactcTT	360_1	8439	-20
361	gccaggattatactct	2-10-4	GCCaggattataCTCT	361_1	8440	-23
362	ctgccaggattatact	3-11-2	CTGccaggattataCT	362_1	8442	-21
363	cagaaacttatactttatg	4-13-2	CAGAaacttatactttaTG	363_1	8473	-19
364	aagcagaaacttatact	4-9-4	AAGCagaaacttaTACT	364_1	8478	-20
365	gaagcagaaacttatact	3-11-4	GAAgcagaaacttaTACT	365_1	8478	-20
366	tggaagcagaaacttatact	3-15-2	TGGAagcagaaacttataCT	366_1	8478	-21
367	tggaagcagaaacttatact	3-13-3	TGGAagcagaaacttaTAC	367_1	8479	-20
368	aagcagaaacttatact	2-11-3	AAGcagaaacttaTAC	368_1	8479	-13
369	tggaagcagaaacttata	3-11-4	TGGAagcagaaactTATA	369_1	8480	-21
370	aagggatattatggag	4-10-2	AAGGgatattatggAG	370_1	8587	-18
371	tgccggaagatttctt	2-12-2	TGccggaagatttcCT	371_1	8641	-21
372	atggattgggagtaga	4-10-2	ATGGattgggagtaGA	372_1	8772	-21
373	agatggattgggagta	2-12-2	AGatggattgggagTA	373_1	8774	-18
374	aagatggattgggagt	3-11-2	AAGatggattgggaGT	374_1	8775	-18
375	acaagatggattggga	2-10-4	ACAagatggattGGGA	375_1	8777	-20
375	acaagatggattggga	2-12-2	ACAagatggattggGA	375_2	8777	-17
376	agaaggttcagacttt	3-9-4	AGAaggttcagaCTTT	376_1	8835	-20
377	gcagaaggttcagact	2-11-3	GCagaaggttcagACT	377_1	8837	-21
377	gcagaaggttcagact	3-11-2	GCAGaaggttcagaCT	377_2	8837	-22
378	tcagaaggttcagac	4-10-2	TGCAGaaggttcagAC	378_1	8838	-22
379	agtcagaaggttcag	2-11-3	AGtcagaaggttCAG	379_1	8840	-20
379	agtcagaaggttcag	4-10-2	AGTgcagaaggttcAG	379_2	8840	-21
380	aagtcagaaggttcac	4-10-2	AAGTgcagaaggttcCA	380_1	8841	-20
381	taagtcagaaggttc	2-10-4	TAAgtcagaagGTTc	381_1	8842	-19
382	tctaagtcagaaggt	2-10-4	TCTaagtcagaAGGT	382_1	8844	-21
383	ctcaggagtctacttc	3-12-2	CTCaggagtctactTC	383_1	8948	-20
384	ctcaggagtctactt	3-10-3	CTCaggagtctactCTT	384_1	8949	-21
385	atggaggtgactcaggag	1-15-2	AtggaggtgactcaggAG	385_1	8957	-20
386	atggaggtgactcagga	2-13-2	ATggaggtgactcagGA	386_1	8958	-21
387	atggaggtgactcagg	2-11-3	ATggaggtgactcAGG	387_1	8959	-21
388	tatggaggtgactcagg	2-12-3	TAtggaggtgactcAGG	388_1	8959	-21
389	atatggaggtgactcagg	2-14-2	ATatggaggtgactcaGG	389_1	8959	-21
390	tatggaggtgactcag	4-10-2	TATGgaggtgactcAG	390_1	8960	-21

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
391	atatggaggtgactcag	2-11-4	ATatggaggtgacTCAG	391_1	8960	-22
392	catatggaggtgactcag	2-14-2	CAtatggaggtgactcAG	392_1	8960	-20
393	atatggaggtgactca	3-10-3	ATAtggaggtgacTCA	393_1	8961	-20
394	catatggaggtgactca	2-12-3	CAtatggaggtgacTCA	394_1	8961	-21
395	catatggaggtgactc	2-10-4	CAtatggaggtgACTC	395_1	8962	-20
396	gcatatggaggtgactc	2-13-2	GCatatggaggtgacTC	396_1	8962	-21
397	tgcatatggaggtgactc	2-14-2	TGcatatggaggtgacTC	397_1	8962	-21
398	ttgcatatggaggtgactc	1-16-2	TtgcatatggaggtgacTC	398_1	8962	-20
399	tttcatatggaggtgactc	1-17-2	TttcatatggaggtgacTC	399_1	8962	-21
400	gcatatggaggtgact	2-12-2	GCatatggaggtgaCT	400_1	8963	-20
401	tgcatatggaggtgact	2-13-2	TGcatatggaggtgaCT	401_1	8963	-20
402	ttgcatatggaggtgact	3-13-2	TTGcatatggaggtgaCT	402_1	8963	-22
403	tttcatatggaggtgact	1-16-2	TttcatatggaggtgaCT	403_1	8963	-20
404	tgcatatggaggtgac	3-11-2	TGcatatggaggtgAC	404_1	8964	-20
405	ttgcatatggaggtgac	3-11-3	TTGcatatggaggtGAC	405_1	8964	-21
406	tttcatatggaggtgac	4-12-2	TTTgcatatggaggtgAC	406_1	8964	-21
407	tttcatatggaggtga	4-11-2	TTTgcatatggaggtGA	407_1	8965	-21
408	tttcatatggaggtg	2-10-4	TTTgcatatggaGGTG	408_1	8966	-21
409	aagtgaagtcaacagc	2-11-4	AAgtgaagtcaaCAGC	409_1	8997	-20
410	tggaagtgaagtca	2-10-4	TGggaagtgaagTTCa	410_1	9002	-20
411	atgggaagtgaagtc	2-11-3	ATgggaagtgaagTTC	411_1	9003	-17
412	gatgggaagtgaagtt	4-9-3	GATGggaagtgaagTTC	412_1	9004	-21
413	ctgtgatgggaagtga	3-11-3	CTGtgatgggaagtGAA	413_1	9007	-20
414	attgagtgaatccaaa	3-10-3	ATTgagtgaatccAAA	414_1	9119	-14
415	aattgagtgaatccaa	2-10-4	AAttgagtgaatCCAA	415_1	9120	-16
416	gataattgagtgaatcc	4-10-3	GATAattgagtgaatTCC	416_1	9122	-20
417	gtgataattgagtga	3-10-3	GTGataattgagtGAA	417_1	9125	-16
418	aagaaaggtgcaataa	3-10-3	AAGaaaggtgcaaTAA	418_1	9155	-14
419	caagaaaggtgcaata	2-10-4	CAagaaaggtgcaATA	419_1	9156	-15
420	acaagaaaggtgcaat	4-10-2	ACAagaaaggtgcaAT	420_1	9157	-16
421	atttaaactcacaac	2-12-2	ATtaaactcacaacAC	421_1	9171	-10
422	ctgttaggttcagcga	2-10-4	CTgttaggttcacGCGA	422_1	9235	-24
423	tctgaatgaacattcg	4-9-4	TCTGaatgaacatTTCG	423_1	9260	-20
424	ctcattgaaggttctg	2-10-4	CTcattgaaggtTCTG	424_1	9281	-20
425	ctaactcattgaagg	3-11-2	CTAactcattgaagG	425_1	9286	-17
426	cctaactcattgaag	2-12-2	CCtaactcattgaAG	426_1	9287	-16
427	acttgatcttcagc	3-10-3	ACTtgatcttcAGC	427_1	9305	-20
428	actatgcaacacttg	2-12-2	ACTatgcaacactTG	428_1	9315	-15
429	caaatagctttatcgg	3-10-3	CAAatagctttatCGG	429_1	9335	-17
430	ccaaatagctttatcg	2-10-4	CCaaatagctttATCG	430_1	9336	-19
431	tccaaatagctttatc	4-10-2	TCCaaatagctttaTC	431_1	9337	-18
432	gatccaaatagcttta	4-10-2	GATCcaaatagcttTA	432_1	9339	-18

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
433	atgatccaaatagctt	2-10-4	ATGatccaaataGCTT	433_1	9341	-19
434	taigtatccaaatagct	4-10-2	TATGatccaaatagCT	434_1	9342	-18
435	taaacagggctgggaat	4-9-4	TAAAcagggctggGAAT	435_1	9408	-22
436	acttaaacagggctgg	2-10-4	ACttaaacagggCTGG	436_1	9412	-21
437	acacttaaacagggct	2-10-4	ACacttaaacagGGCT	437_1	9414	-22
438	gaacacttaaacaggg	4-8-4	GAACacttaaacAGGG	438_1	9416	-20
439	agagaacacttaaacag	4-9-4	AGAGaacacttaaACAG	439_1	9418	-20
440	ctacagagaacactta	4-8-4	CTACagagaacaCTTA	440_1	9423	-20
441	atgctacagagaacact	3-10-4	ATGctacagagaaCACT	441_1	9425	-22
442	ataaatgctacagagaaca	4-11-4	ATAAatgctacagagACA	442_1	9427	-20
443	agataaatgctacagaga	2-12-4	AGataaatgctacaGAGA	443_1	9430	-20
444	tagagataaatgctaca	4-9-4	TAGAgataaatgcTACA	444_1	9434	-21
445	tagatagagataaatgct	4-11-3	TAGAtagagataaatGCT	445_1	9437	-20
446	caatatactagatagaga	4-10-4	CAATatactagataGAGA	446_1	9445	-21
447	tacacaataatactagatag	4-11-4	TACAcataatactagATAG	447_1	9448	-21
448	ctacacaataatactag	3-10-3	CTAcacaataatactAG	448_1	9452	-16
449	gctacacaataatacta	4-8-4	GCTAcacaataataCTA	449_1	9453	-21
450	atatgctacacaataatac	4-10-4	ATATgctacacaataATAC	450_1	9455	-20
451	tgatatgctacacaat	4-8-4	TGATatgctacaCAAT	451_1	9459	-20
452	atgatatgatatgctac	4-9-4	ATGAtatgatatgCTAC	452_1	9464	-21
453	gaggagagagacaataaaa	4-10-4	GAGGagagagacaaTAAA	453_1	9495	-20
454	ctaggaggagagagaca	3-11-3	CTAggaggagagagACA	454_1	9500	-22
455	tattctaggaggagaga	4-10-3	TATTctaggaggagAGA	455_1	9504	-21
456	ttatattctaggaggag	4-10-3	TTATattctaggagGAG	456_1	9507	-21
457	gtttatattctaggag	3-9-4	GTTtatattctaGGAG	457_1	9510	-20
458	tggagtttatattctagg	2-12-4	TGgagtttatattctAGG	458_1	9512	-22
459	cgtaccaccactctgc	2-11-3	CGtaccaccactcTGC	459_1	9590	-25
460	tgaggaaatcattcattc	4-10-4	TGAGgaaatcattcATTC	460_1	9641	-22
461	tttgaggaaatcattcat	4-10-4	TTTGaggaaatcatTCAT	461_1	9643	-20
462	aggctaalcctatlttg	4-10-2	AGGctaalcctatltTG	462_1	9657	-22
463	tttaggctaalcctat	4-8-4	TTTAggctaalcctAT	463_1	9660	-22
464	tgtccagtgaccct	3-11-2	TGtccagtgaccCT	464_1	9755	-27
465	tagtagtactcgatag	2-10-4	TAgtagtactcgATAG	465_1	9813	-18
466	ctaattgtagtagtactc	3-12-3	CTAattgtagtagtaCTC	466_1	9818	-20
467	tgctaattgtagtagt	2-10-4	TGctaattgtagTAGT	467_1	9822	-19
468	agtgctaattgtagta	4-10-2	AGTgctaattgtagTA	468_1	9824	-19
469	gcaagtgctaattgta	4-10-2	GCAAgtgctaattgTA	469_1	9827	-20
470	gaggaaatgaactaattta	4-13-2	GAGGaaatgaactaattTA	470_1	9881	-18
471	caggaggaaatgaacta	4-11-2	CAGGaggaaatgaacTA	471_1	9886	-19
472	ccctagagtcatttcc	2-11-3	CCctagagtcattTCC	472_1	9902	-24
473	atcttacctgatgaagc	3-11-3	ATcttacctgatgaAGC	473_1	9925	-20
475	agacacactcagatttcag	2-15-2	AGacacactcagatttcAG	475_1	9967	-20

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
474	gacacactcagatttcag	3-13-2	GACacactcagatttcAG	474_1	9967	-20
476	aagacacactcagatttcag	3-15-2	AAGacacactcagatttcAG	476_1	9967	-21
477	agacacactcagatttca	2-13-3	AGacacactcagattTCA	477_1	9968	-20
478	aagacacactcagatttca	3-13-3	AAGacacactcagattTCA	478_1	9968	-21
479	aaagacacactcagatttca	2-14-4	AAagacacactcagatTTCA	479_1	9968	-20
480	gaaagacacactcagatttc	3-14-3	GAAagacacactcagatTTC	480_1	9969	-20
481	aagacacactcagatttc	4-11-3	AAGAcacactcagatTTC	481_1	9969	-21
482	aaagacacactcagatttc	4-11-4	AAAGacacactcagaTTTC	482_1	9969	-20
483	tgaaagacacactcagattt	4-14-2	TGAAagacacactcagatTT	483_1	9970	-20
484	tgaaagacacactcagatt	2-13-4	TGaaagacacactcaGATT	484_1	9971	-21
485	tgaaagacacactcagat	3-12-3	TGAaagacacactcaGAT	485_1	9972	-20
486	attgaaagacacactca	4-10-3	ATTGaaagacacacTCA	486_1	9975	-19
487	tcattgaaagacacact	2-11-4	TCattgaaagacaCACT	487_1	9977	-18
488	ttccatcattgaaaga	3-9-4	TTccatcattgaAAGA	488_1	9983	-18
489	ataataccacttatcat	4-9-4	ATAataccacttaTCAT	489_1	10010	-20
490	ttacttaatttcttggga	2-12-4	TTacttaatttctTGGA	490_1	10055	-20
491	ttagaactagctttatca	3-12-3	TTAgaactagctttaTCA	491_1	10101	-20
492	gaggtagacaatatagg	3-10-3	GAGgtacaatatAGG	492_1	10171	-18
493	cttatgatacaactta	3-10-3	CTTatgatacaacTTA	493_1	10384	-15
494	tcctatgatacaactt	2-11-3	TCctatgatacaactT	494_1	10385	-15
495	ttctatgatacaact	3-11-2	TTctatgatacaact	495_1	10386	-15
496	cagtttcttatgatac	2-11-3	CagtttcttatgaTAC	496_1	10390	-16
497	gcagtttcttatgata	3-11-2	GCagtttcttatgaTA	497_1	10391	-19
498	tacaaatgtctattaggtt	4-12-3	TACaaatgtctattagGTT	498_1	10457	-21
499	tgtacaaatgtctattag	4-11-3	TGTacaaatgtctatTAG	499_1	10460	-20
500	agcatcacaattagta	3-11-2	AGcatcacaattagTA	500_1	10535	-18
501	ctaatgatagtgaaagc	3-11-2	CTaatgatagtgaaGC	501_1	10548	-17
502	agctaatgatagtgaa	3-11-2	AGctaatgatagtgAA	502_1	10550	-16
503	atgccttgacataa	4-10-2	ATGCcttgacataTA	503_1	10565	-20
504	ctcaagattattgacac	4-9-4	CTCAagattattgACAC	504_1	10623	-20
505	acctcaagattattga	2-10-4	ACctcaagattaTTGA	505_2	10626	-18
505	acctcaagattattga	3-9-4	ACctcaagattaTTGA	505_1	10626	-20
506	aacctcaagattattg	4-10-2	AACctcaagattatTG	506_1	10627	-17
507	cacaaacctcaagattatt	4-13-2	CACaaacctcaagattaTT	507_1	10628	-20
508	gtacttaattagacct	3-9-4	GTacttaattagACCT	508_1	10667	-21
509	agtacttaattagacc	4-9-3	AGTacttaattagACC	509_1	10668	-20
510	gtatgagggtgtaaac	4-10-2	GTATgagggtgtaaAC	510_1	10688	-18
511	aggaaacagcagaagtg	2-11-4	AGgaaacagcagaAGTG	511_1	10723	-21
512	gcacaaccagaggaa	2-12-2	GCacaaccagaggAA	512_1	10735	-20
513	caagcacaaccagag	3-11-2	CAAGcacaaccagAG	513_1	10738	-20
514	ttcaagcacaaccag	3-10-3	TTCAagcacaaccCAG	514_1	10740	-21
515	aattcaagcacaacc	2-10-4	AAttcaagcacaACCC	515_1	10742	-20

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
516	taataaltcaagcacaacc	4-13-2	TAATAaltcaagcacaCC	516_1	10743	-20
517	actaataaltcaagcac	4-9-4	ACTAataaltcaaGCAC	517_1	10747	-20
518	ataataactaataattcaagc	4-12-4	ATAataactaataattcAAGC	518_1	10749	-19
519	tagattgtgaggttaa	2-10-4	TAgattgtgagGTAA	519_1	11055	-18
520	agccttaattctccat	4-10-2	AGCCttaattctccAT	520_1	11091	-24
521	aatgatctagagcctta	4-9-4	AATGatctagagcCTTA	521_1	11100	-22
522	ctaataatctagagcc	3-10-3	CTAataatctagaGCC	522_1	11103	-22
523	actaatgatctagagc	3-9-4	ACTaatgatctaGAGC	523_1	11104	-21
524	cattaacatgttcttatt	3-11-4	CATtaacatgttctTATT	524_1	11165	-19
525	acaagtacattaacatgttc	4-12-4	ACAagtacattaacatGTTC	525_1	11170	-22
526	ttacaagtacattaacatg	4-11-4	TTACaagtacattaacATG	526_1	11173	-20
527	gctttattcatgittat	4-9-4	GCTTtattcatgtTTAT	527_1	11195	-22
528	gctttattcatgitta	3-11-2	GCTTtattcatgttTA	528_1	11196	-18
529	agagctttattcatgttt	3-13-2	AGAgctttattcatgtTT	529_1	11197	-20
530	ataagagctttattcatg	4-10-4	ATAagagctttattCATG	530_1	11200	-21
531	cataagagctttattca	4-9-4	CATAagagctttaTTCA	531_1	11202	-21
532	agcataagagctttat	4-8-4	AGCataagagctTTAT	532_1	11205	-22
533	tagattgtttagtgca	3-10-3	TAGattgtttagtGCA	533_1	11228	-20
534	gtagattgtttagtgcc	2-10-4	GTagattgtttaGTGC	534_1	11229	-21
535	gacaattctagtagatt	4-9-4	GACAattctagtaGATT	535_1	11238	-21
536	ctgacaattctagtag	3-9-4	CTGacaattctaGTAG	536_1	11241	-20
537	gctgacaattctagta	4-10-2	GCTGacaattctagTA	537_1	11242	-21
538	aggattaagatacgtta	2-12-2	AGgattaagatacgtTA	538_1	11262	-15
539	caggattaagatacgt	2-11-3	CAggattaagataCGT	539_1	11263	-17
540	tcaggattaagatacgt	3-11-2	TCaggattaagataCG	540_1	11264	-16
541	ttcaggattaagatac	2-10-4	TTcaggattaagATAC	541_1	11265	-15
542	aggaagaaagttgattc	4-10-4	AGGAagaaagttgATTC	542_1	11308	-21
543	tcaaggaagaaagttga	4-10-4	TCAaggaagaaagtTTGA	543_1	11311	-20
544	ctcaaggaagaaagttg	4-10-4	CTCAaggaagaaagTTG	544_1	11312	-20
545	tgctcaaggaagaaagt	3-10-4	TGctcaaggaagaAAGT	545_1	11315	-21
546	aattatgctcaaggaaga	4-11-3	AATtAtgctcaaggaAGA	546_1	11319	-20
547	taggataccacattatga	4-12-2	TAGGataccacattatGA	547_1	11389	-22
548	cataattattccattctc	2-15-3	CATAattattccattcCTC	548_1	11449	-22
549	tgcataattattccat	4-10-3	TGCataattattcCAT	549_1	11454	-22
550	actgcataattattcc	4-10-3	ACTGcataattatTCC	550_1	11456	-21
551	ctaaactgcataatttatt	4-11-4	CTAAactgcataattTATT	551_1	11458	-20
552	ataactaaactgcata	2-10-4	ATAactaaactgCATA	552_1	11465	-16
553	ttattaataactaaactgc	3-12-4	TTAttaataactaaaCTGC	553_1	11468	-19
554	tagtacattattaataact	4-13-2	TAGTAcattattaataaCT	554_1	11475	-18
555	cataactaaggacgtt	4-10-2	CATAactaaggacgTT	555_1	11493	-17
556	tcataactaaggacgt	2-11-3	TCataactaaggacGT	556_1	11494	-16
557	cgctcataactaaggac	4-10-2	CGTCataactaaggAC	557_1	11496	-17
558	tcgctcataactaaggaa	2-12-2	TCgctcataactaagGA	558_1	11497	-16

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
559	atcgtcataactaagg	2-10-4	ATcgtcataactAAGG	559_1	11498	-17
560	gtagtatcttacatt	2-11-3	GtagtatcttacATT	560_1	11525	-15
561	ctctattgtagtatac	3-10-3	CTctattgtagtATC	561_1	11532	-17
562	agtatagagttactgt	3-10-3	AGTatagagttacTGT	562_1	11567	-19
563	ttcctggtgatacttt	4-10-2	TTCCtggtgatactTT	563_1	11644	-21
564	gttctggtgatactt	4-10-2	GTTCCtggtgatactTT	564_1	11645	-21
565	tggtcctggtgatact	2-12-2	TGgtcctggtgataCT	565_1	11646	-20
566	ataaacatgaatctctcc	2-12-4	ATAaacatgaatctCTCC	566_1	11801	-20
567	ctttataaacatgaatctc	3-12-4	CTTTataaacatgaaTCTC	567_1	11804	-19
568	ctgtctttataaacatg	3-10-4	CTGtctttataaaaCATG	568_1	11810	-19
569	ttgttataaaatctgtctt	2-12-4	TTgttataaaatctgTCTT	569_1	11820	-18
570	ttaaatttattcttgata	3-12-4	TTAaatttattcttgGATA	570_1	11849	-19
571	cttaaatttattcttgga	2-12-4	CTtaaatttattctTGGA	571_1	11851	-19
572	cttcttaaatttattcttg	4-13-2	CTTcttaaatttattctTG	572_1	11853	-18
573	atgtttctcagtaaag	4-9-4	TATGtttctcagTAAAG	573_1	11877	-19
574	gaattatctttaaacca	3-10-4	GAAttatctttaaACCA	574_1	11947	-18
575	cccttaaatttctaca	3-11-2	CCcttaaatttctaCA	575_1	11980	-20
576	acactgctcttgacc	4-10-2	ACACtgctcttgtaCC	576_1	11995	-23
577	tgacaacactgctctt	3-10-3	TGAcacactgctCTT	577_1	12000	-21
578	tacatttattgggctc	4-10-2	TACAttattgggcTC	578_1	12081	-19
579	gtacatttattgggct	2-10-4	GTacatttattgGGCT	579_1	12082	-23
580	ttggtacatttattgg	3-10-3	TTGgtacatttattGG	580_1	12085	-18
581	catgttgggtacatttat	4-10-3	CATGttgggtacattTAT	581_1	12088	-21
582	aatcatgttgggtacat	4-10-2	AATCatgttgggtacAT	582_1	12092	-16
583	aaatcatgttgggtaca	2-12-2	AAatcatgttgggtaca	583_1	12093	-14
584	gacaagtttgattaa	3-11-2	GACAagtttgattAA	584_1	12132	-14
585	aatgttcagatgctc	2-10-4	AAgttcagatgCTC	585_1	12197	-21
586	gcttaatgttcagatg	2-12-2	GCTtaatgttcagaTG	586_1	12201	-17
587	cgtacatagcttgatg	4-10-2	CGTAcatagcttgaTG	587_1	12267	-20
588	gtgaggaattaggata	3-11-2	GTGaggaattaggata	588_1	12753	-17
589	gtaacaatatggtttg	3-11-2	GTAacaatatggttTG	589_1	12780	-15
590	gaaatattgtagacta	2-11-3	GAAatattgtagaCTA	590_1	13151	-14
591	ttgaaatattgtagac	3-11-2	TTGaaatattgtagAC	591_1	13153	-12
592	aagtctagtaattgc	2-10-4	AAgtctagtaattTGC	592_1	13217	-17
593	gctcagtagattataa	4-10-2	GCTCagtagattataAA	593_1	13259	-17
594	catacactgttgctaa	3-10-3	CATacactgttgctTAA	594_1	13296	-19
595	atggctcaaatcatt	3-10-3	ATGgtctcaaatcATT	595_1	13314	-17
596	caatggctcaaatca	4-10-2	CAATggctcaaatCA	596_1	13316	-18
597	ttcctattgattgact	4-10-2	TTCCtattgattgaCT	597_1	13568	-20
598	tttctgttcacaacac	4-10-2	TTTctgttcacaacAC	598_1	13600	-17
599	aggaaccactaatct	2-11-3	AGGaaccactaaTCT	599_1	13702	-20
600	taaatggcaggaaccc	3-11-2	TAAatggcaggaacCC	600_1	13710	-19

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
601	gtaaatggcaggaacc	4-10-2	GTAAatggcaggaCC	601_1	13711	-20
602	ttgtaaatggcaggaa	2-11-3	TTgtaaatggcagGAA	602_1	13713	-16
603	ttatgagttaggcatg	2-10-4	TTatgagttaggCATG	603_1	13835	-19
604	ccaggtgaaactltaa	3-11-2	CCAggtgaaacttAA	604_1	13935	-17
605	cccttagtcagctcct	3-10-3	CCcttagtcagctCCT	605_1	13997	-30
606	acccttagtcagctcc	2-10-4	ACccttagtcagCTCC	606_1	13998	-27
607	cacccttagtcagctc	2-11-3	CAcccttagtcagCTC	607_1	13999	-24
608	tccttactaggctcc	3-10-3	TCTcttactaggcTCC	608_1	14091	-24
609	cctatctgcatcatg	2-11-3	CCtatctgcatcATG	609_1	14178	-20
610	tcctatctgcatcat	3-11-2	TCctatctgcatcAT	610_1	14179	-20
611	gagaagtgtgagaagc	3-11-2	GAGAagtgtgagaGC	611_1	14808	-19
612	catcctgaagtttag	4-10-2	CATCctgaagttTAG	612_1	14908	-19
613	taataagatggctccc	3-10-3	TAAaagatggctCCC	613_1	15046	-21
614	caaggcataataagat	3-11-2	CAAggcataataagAT	614_1	15053	-14
615	ccaaggcataataaga	2-10-4	CCaaggcataatAAGA	615_1	15054	-18
616	tgatccaattctcacc	2-12-2	TGatccaattctcaCC	616_1	15151	-19
617	atgatccaattctcac	3-10-3	ATGatccaattctCAC	617_1	15152	-19
618	cgcttcatctcacc	3-11-2	CGCttcatctcaCC	618_1	15260	-26
619	tatgacactgcatctt	2-10-4	TATgacactgcaTCTT	619_1	15317	-19
620	gtatgacactgcatct	3-10-3	GTATgacactgcaTCT	620_1	15318	-21
621	tgatgacactgcatc	2-10-4	TGatgacactgCATC	621_1	15319	-20
622	ttcttctgtaagtc	4-10-2	TTCTtctgtaagTC	622_1	15363	-19
623	ttctacagaggaacta	2-10-4	TTctacagaggaACTA	623_1	15467	-17
624	actacagtctacaga	3-10-3	ACTacagtctacAGA	624_1	15474	-19
625	ttcccacaggtaaag	4-10-2	TTCCcacaggtaaaTG	625_1	15561	-21
626	attattgaatataactcatt	4-12-4	ATTAttgaatataactCATT	626_1	15594	-20
627	tgaggaggaaattattg	4-10-3	TGGGaggaaattatTTG	627_1	15606	-20
628	tgactcatcttaaatg	4-10-2	TGACTcatcttaaaTG	628_1	15621	-17
629	ctgactcatcttaaat	3-11-2	CTGactcatcttaaAT	629_1	15622	-16
630	ttactctgactc	3-10-3	TTactctgactcATC	630_1	15628	-17
631	tattggaggaattatt	3-11-2	TATtggaggaattaTT	631_1	15642	-14
632	gtattggaggaattat	3-11-2	GTAttggaggaattAT	632_1	15643	-16
633	tggtatacttctctaagtat	2-15-3	TGgtatacttctctaagTAT	633_1	15655	-22
634	gatctcttgggtatact	4-10-2	GATCtcttgggtataCT	634_1	15666	-20
635	cagacaactctatacc	2-12-2	CAGacaactctataCC	635_1	15689	-18
636	aacatcagacaactcta	4-9-4	AACAtcagacaacTCTA	636_1	15693	-21
637	taacatcagacaactc	4-10-2	TAACatcagacaacTC	637_1	15695	-16
638	tttaacatcagacaactc	4-10-4	TTTAacatcagacaACTC	638_1	15695	-20
639	atttaacatcagacaa	2-12-2	ATttaacatcagacAA	639_1	15698	-11
640	cctatttaacatcagac	2-11-4	CCtatttaacatcAGAC	640_1	15700	-20
641	tcctatttaacatca	3-10-3	TCCtatttaacaTCA	641_1	15703	-21
642	tcaacgactattggaat	4-9-4	TCAAcgactattgGAAT	642_1	15737	-20

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
643	cttatattctggctat	4-9-3	CTTAtattctggcTAT	643_1	15850	-20
644	atccttatattctggc	4-10-2	ATCCttatattctgGC	644_1	15853	-23
645	gatccttatattctgg	2-10-4	GATccttatattCTGG	645_1	15854	-21
646	lgatccttatattctg	3-10-3	TGATccttatattCTG	646_1	15855	-19
647	attgaaactgatcct	4-8-4	ATTGaaactgaTCCT	647_1	15864	-21
648	actgtcattgaaact	2-10-4	ACTgtcattgaaACTT	648_1	15870	-16
649	tcttactgtcattgaa	3-11-2	TCTtactgtcattgAA	649_1	15874	-16
650	aggatcttactgtcatt	2-11-4	AGgatcttactgtCATT	650_1	15877	-21
651	gcaaatcaactccalc	3-10-3	GCAaatcaactccATC	651_1	15896	-20
652	gtgcaaatcaactcca	3-10-3	GTGcaaatcaactCCA	652_1	15898	-22
653	caattatttcttggc	4-10-3	CAATtatttcttTGC	653_1	15910	-21
654	tggcaacaattattctt	3-11-4	TGGcaacaattattTCTT	654_1	15915	-21
655	gctggcaacaattatt	3-9-4	GCTggcaacaattATT	655_1	15919	-21
656	atccatttctactgcc	4-10-2	ATCCatttctactgCC	656_1	15973	-24
657	taatatctattgatttcta	4-11-4	TAATatctattgattTCTA	657_1	15988	-20
658	tcaatagtgtagggca	2-12-2	TCaatagtgtagggCA	658_1	16093	-18
659	ttcaatagtgtagggc	3-11-2	TTCaatagtgtaggGC	659_1	16094	-19
660	aggtaattaattcaatag	4-11-4	AGGTaattaattcaATAG	660_1	16102	-21
661	catttgaatcccctag	3-10-3	CATtTgaaatcccTAG	661_2	16163	-20
661	catttgaatcccctag	3-9-4	CATtTgaaatcccCTAG	661_1	16163	-22
662	acatttgaatccccta	3-10-3	ACAttTgaaatcccCTA	662_1	16164	-20
663	aacatttgaatcccct	2-10-4	AACatttgaatCCCT	663_2	16165	-21
663	aacatttgaatcccct	3-9-4	AACatttgaatCCCT	663_1	16165	-22
664	taaattcaagttctg	2-11-3	TAAattcaagttCTG	664_1	16184	-14
665	gttaaattcaagttct	3-11-4	GTTaaattcaagTTCT	665_1	16185	-19
666	ccaagtttaaattcaag	4-10-4	CCAagtttaaattCAAG	666_1	16189	-21
667	accaagtttaaatttc	4-9-4	ACCCaagtttaaTTTC	667_1	16192	-22
668	catacagtgaccaagttt	2-14-3	CATacagtgaccaagTTT	668_1	16199	-23
669	acatcccatacagtga	2-11-3	ACatcccatacagTGA	669_1	16208	-21
670	agcacagctctacatc	2-10-4	AGcacagctctacATC	670_1	16219	-22
671	atacagcacagctcta	3-9-4	ATAtacagcacagTCTA	671_1	16223	-21
672	tccatatagcacagct	3-11-2	TCCatatagcacagCT	672_1	16226	-22
673	attccatatagcaca	3-9-4	ATTtccatatagCACA	673_1	16229	-20
674	tttattccatatagca	4-9-4	TTTAttccatatAGCA	674_1	16231	-22
675	tttattccatatagc	3-10-3	TTTAttccatatAGC	675_1	16232	-18
676	aaggagaggagattatg	4-9-4	AAGGagaggagattATG	676_1	16409	-21
677	agttcttgtgttagct	3-11-2	AGTtcttgtgttagCT	677_1	16456	-21
678	gagttcttgtgttagc	2-12-2	GAGttcttgtgttagGC	678_1	16457	-20
679	attaattatccatccac	3-10-4	ATTAattatccatCCAC	679_1	16590	-21
680	atcaattaattatccatc	3-11-4	ATCaattaattatcCATC	680_1	16593	-19
681	agaatcaattaattatcc	3-12-3	AGAatcaattaattaTCC	681_1	16596	-18
682	tgagataccgtgcatg	2-12-2	TGagataccgtgcatG	682_1	16656	-18

ES 2 857 702 T3

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
683	aatgagataccgtgca	2-10-4	AAtgagataccgTGCA	683_1	16658	-21
684	ctgtggtaggcta	3-11-2	CTGtggtaggctaAT	684_1	16834	-19
685	aagagtaagggctgtggt	1-17-2	AagagtaagggctgtggtTT	685_1	16842	-21
686	gatgggtaagagtaa	4-9-3	GATGgggtaagagTAA	686_1	16854	-19
687	agcagatgggtaaga	3-11-2	AGCagatgggtaagaGA	687_1	16858	-20
688	tgtaaacattgtagc	2-10-4	TGtaaacattgtTAGC	688_1	16886	-19
689	cctgctataaatgta	3-11-2	CCTgctataaatgTA	689_1	16898	-19
690	tgccctgctataaat	4-10-2	TGCCctgctataaatAT	690_1	16901	-23
691	tcttctagttcaata	2-12-2	TCtttctagttcaataTA	691_1	16935	-15
692	tggtttctaactacat	2-10-4	TGgtttctaactACAT	692_1	16980	-18
693	agttggtttctaacta	2-12-3	AGtttggtttctaaCTA	693_1	16983	-19
694	gaatgaaactgacctg	3-10-3	GAAtgaaactgacctgCTG	694_1	17047	-18
695	attatcctacatgat	3-10-3	ATTatcctacatGAT	695_1	17173	-17
696	gtaccaaatattacct	2-11-3	GTaccaaatattacctCTT	696_1	17180	-21
697	tgtaccaaatattacct	3-10-3	TGTaccaaatattacctCCT	697_1	17181	-24
698	ttgtaccaaatattacc	2-11-3	TTgtaccaaatattaccTCC	698_1	17182	-20
699	ttgtaccaaatattacc	3-11-2	TTTgtaccaaatattaccTC	699_1	17183	-17
700	agcagcaggttatatt	4-10-2	AGCagcaggttatattTT	700_1	17197	-22
701	tgggaagtggctctggg	3-10-3	TGGgaagtggctctGGG	701_1	17292	-25
702	ctggagagtgataata	3-11-2	CTGgagagtgataataTA	702_1	17322	-17
703	aatgctggattacgctc	4-10-2	AATGctggattacgctcTC	703_1	17354	-19
704	caatgctggattacgct	2-11-3	CAatgctggattacgctCGT	704_1	17355	-19
705	ttgttcagaagatattcc	2-10-4	TTgttcagaagatattccTCC	705_1	17625	-19
706	gatgattgcttggag	2-10-4	GATgattgcttGGAG	706_1	17646	-21
707	gaaatcattcacacc	3-10-3	GAAatcattcacaccACC	707_1	17860	-17
708	ttgtaacatctactac	3-10-3	TTGtaacatctactacTAC	708_1	17891	-16
709	cattaagcagcaagtt	3-11-2	CATtaagcagcaagttTT	709_1	17923	-17
710	ttactagatgtgagca	3-11-2	TTActagatgtgagcaCA	710_1	17942	-18
711	ttactagatgtgagc	2-11-3	TTtactagatgtgagcAGC	711_1	17943	-18
712	gaccaagcaccttaca	3-11-2	GACcaagcaccttacaCA	712_1	17971	-22
713	agaccaagcaccttacc	3-10-3	AGAccaagcaccttaccTAC	713_1	17972	-22
714	atgggttaataaagg	2-10-4	ATgggttaataaaggAAGG	714_1	18052	-15
715	tcaaccagagtattaa	2-12-2	TCaaccagagtattaaAA	715_1	18067	-13
716	gtcaaccagagtattaa	3-11-2	GTCaaccagagtattaaTA	716_1	18068	-18
717	atgttaaagctgatatt	2-11-3	ATgttaaagctgatattTAT	717_1	18135	-14
718	acataaattgtaaagc	2-10-4	CAcataaattgtaaagcAAGC	718_1	18141	-16
719	gaggctgctatttacc	2-11-3	GAggctgctatttaccTAC	719_1	18274	-19
720	tgtagattcaatgcct	2-11-3	TGtagattcaatgcctCCT	720_1	18404	-20
721	cctcattatactatga	2-11-3	CCtcattatactatgaTGA	721_1	18456	-19
722	ccctatgctatgacac	2-12-2	CCctatgctatgacacAC	722_1	18509	-18
723	tccttatgctatgaca	4-10-2	TCCTtatgctatgacaCA	723_1	18510	-22
724	aagatgtttaagata	3-10-3	AAGatgtttaagataATA	724_1	18598	-13

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en ID NO: 1	dG
725	ctgattattaagatgt	2-10-4	CTgattattaagATGT	725_1	18607	-17
726	tggaaaggtatgaatt	2-12-2	TGgaaaggtatgaaTT	726_1	18808	-13
727	acttgaatggcttga	2-12-2	ACTtgaatggcttGA	727_1	18880	-18
728	aacttgaatggcttgg	3-10-3	AACttgaatggctTGG	728_1	18881	-19
729	caatgtgttactattt	4-10-2	CAATgtgttactatTT	729_1	19004	-16
730	acaatgtgttactatt	3-10-3	ACAatgtgttactATT	730_1	19005	-15
731	catctgctataataaga	4-10-2	CATCtgcctataataGA	731_1	19063	-18
732	cctagagcaaataactt	4-10-2	CCTAgagcaaataacTT	732_1	19223	-20
733	cagagttaataataag	3-10-3	CAGagttaataatAAG	733_1	19327	-13
734	gttcaagcacaacgaa	4-10-2	GTTCaagcacaacgAA	734_1	19493	-18
735	agggttcaagcacaac	2-11-3	AGggttcaagcacAAC	735_1	19496	-18
736	tgttgagacactgtt	2-12-2	TGttgagacactgTT	736_1	19677	-17
737	aaggaggagttaggac	3-11-2	AAGgaggagttaggAC	737_1	19821	-18
738	ctatgccattttagcat	4-10-2	CTATgccattttagcAT	738_1	19884	-21
739	tcaaatgcagaattag	2-12-2	TcaaatgcagaattAG	739_1	19913	-12
740	agtgacaatcaaatgc	2-10-4	AGtgacaatcaaATGC	740_1	19921	-18
741	aagtgacaatcaaatg	2-11-3	AAgtgacaatcaaATG	741_1	19922	-12
742	gtgtaccaagtaacaa	3-11-2	GTGtaccaagtaacAA	742_1	19978	-16
743	tgggatgtaaacTga	3-10-3	TGGgatgtaaacTGA	743_1	20037	-20

Las secuencias de motivos representan la secuencia contigua de nucleobases presentes en el oligonucleótido.

5 Los diseños se refieren al diseño de gapmeros, F-G-F', donde cada número representa el número de nucleósidos modificados consecutivos, por ejemplo, nucleósidos modificados en 2' (primer número = flanco en 5'), seguido del número de nucleósidos de ADN (segundo número = región de hueco), seguido del número de nucleósidos modificados, por ejemplo, nucleósidos modificados en 2' (tercer número = flanco en 3'), opcionalmente precedidos o seguidos de otras regiones repetidas de ADN y LNA, que no son necesariamente parte de la secuencia contigua que es complementaria al ácido nucleico diana.

10 Los compuestos de oligonucleótidos representan diseños específicos de una secuencia de motivos. Las letras mayúsculas representan nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras minúsculas representan nucleósidos de ADN, todos los LNA C son 5-metilcitosina, todos los enlaces internucleosídicos son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.

15 Tabla 6: Oligonucleótidos dirigidos a de transcritos de PD-L1 de ratón (SEQ ID NO: 4), diseños de estos, así como compuestos de oligonucleótidos específicos (indicados por CMP ID NO) diseñados en base a la secuencia de motivos.

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto oligonucleótidos	de CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 4	dG
744	agtttacatttctgc	3-10-3	AGTttacatttctGTC	744_1	4189	-20
745	tatgtgaagaggagag	3-10-3	TATgtgaagaggagGAG	745_1	7797	-19
746	cacctttaaaccocca	3-10-3	CACctttaaaccCCA	746_1	9221	-23
747	tcctttataatcacac	3-10-3	TCCtttataatcaCAC	747_1	10386	-19
748	acggatatttcacagg	3-10-3	ACGgatatttcacAGG	748_1	12389	-21
749	gacactacaatgagga	3-10-3	GACactacaatgaGGA	749_1	15088	-20
750	tggtttttaggactgt	3-10-3	TGGtttttaggactTGT	750_1	16410	-21
751	cgacaaattctatcct	3-10-3	CGAcaaattctatCCT	751_1	18688	-20
752	tgatatacaatgctac	3-10-3	TGAtatacaatgcTAC	752_1	18735	-16

SEQ ID NO	Secuencia de motivos	Diseño	Compuesto de oligonucleótidos	CMP ID NO	Inicio en SEQ ID NO: 4	dG
753	tcggtgggtaaattta	3-10-3	TCGgtgggtaaattTA	753_1	19495	-17
754	tgctttataaatggtg	3-10-3	TGctttataaatgGTG	754_1	19880	-19

Las secuencias de motivos representan la secuencia contigua de nucleobases presentes en el oligonucleótido.

5 Los diseños se refieren al diseño de gapmeros, 'F-G-F', donde cada número representa el número de nucleósidos modificados consecutivos, por ejemplo, nucleósidos modificados en 2' (primer número = flanco en 5'), seguido del número de nucleósidos de ADN (segundo número = región de hueco), seguido del número de nucleósidos modificados, por ejemplo, nucleósidos modificados en 2' (tercer número = flanco en 3'), opcionalmente precedidos o seguidos de otras regiones repetidas de ADN y LNA, que no son necesariamente parte de la secuencia contigua que es complementaria al ácido nucleico diana.

10 Los compuestos de oligonucleótidos representan diseños específicos de una secuencia de motivos. Las letras mayúsculas representan nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras minúsculas representan nucleósidos de ADN, todos los LNA C son 5-metilcitosina, todos los enlaces internucleosídicos son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.

15 Tabla 7: Secuencias de motivos de oligonucleótidos y compuestos antisentido con conector bioescindible de ca en 5'.

SEQ ID NO	secuencia de motivos	compuesto de oligonucleótidos con conector de ca	CMP ID NO
755	caagttacattttctgc	c _o a _o AGTttacattttcTGC	755_1
756	catatgtgaagaggagag	c _c a _o TATgtgaagaggaGAG	756_1
757	cacctttaaacccca	c _o a _o CACctttaaaccCCA	757_1
758	catcctttataatcacac	c _o a _o TCCtttataatcaCAC	758_1
759	caacggtattttcacagg	c _o a _o ACGgtattttcacAGG	759_1
760	cagacactacaatgagga	c _o a _o GACactacaatgaGGA	760_1
761	catggtttttaggactgt	c _o a _o TGGtttttaggacTGT	761_1
762	cacgacaaattctatcct	c _o a _o CGAcaaattctatCCT	762_1
763	catgatatacaatgctac	c _o a _o TGAtatacaatgcTAC	763_1
764	catcggtgggtaaattta	c _o a _o TCGgtgggtaaattTA	764_1
765	catgctttataaatggtg	c _o a _o TGctttataaatgGTG	765_1
766	caacaaataatggttactct	c _o a _o ACAAataatggttaCTCT	766_1
767	cacagattgatggtagtt	c _o a _o CAGattgatggtagTT	767_1
768	cacctatttaacatcagac	c _o a _o CCtatttaacatcAGAC	768_1
769	cactaattgtagtagtactc	c _o a _o CTAattgtagtagtaCTC	769_1
770	caataaacatgaatctctcc	c _o a _o ATAaacatgaatctCTCC	770_1

20 Las letras mayúsculas representan nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras minúsculas representan nucleósidos de ADN, todos los LNA C son 5-metilcitosina, el subíndice o representa un enlace internucleosídico fosfodiéster y, a menos que se indique de otro modo, otros enlaces internucleosídicos son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.

Tabla 8: Compuestos de oligonucleótidos antisentido conjugados con GalNAc.

conjugado de oligonucleótidos antisentido	CMP ID NO
GN2-C6 _o c _o a _o AGTttacattttcTGC	755_2
GN2-C6 _o c _o a _o TATgtgaagaggaGAG	756_2
GN2-C6 _o c _o a _o CACctttaaaccCCA	757_2
GN2-C6 _o c _o a _o TCCtttataatcaCAC	758_2
GN2-C6 _o c _o a _o ACGgtattttcacAGG	759_2
GN2-C6 _o c _o a _o GACactacaatgaGGA	760_2
GN2-C6 _o c _o a _o TGGtttttaggacTGT	761_2

conjugado de oligonucleótidos antisentido	CMP ID NO
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ CGAcaaattctatCCT	762_2
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ TGAtatacaatgcTAC	763_2
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ TCGttgggtaaatTTA	764_2
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ TGCttataaatgGTG	765_2
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ ACAAataatgggtaCTCT	766_2
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ CAGAttgatgtagTT	767_2
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ CCtatttaacatcAGAC	768_2
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ CTAattgtagtagtaCTC	769_2
GN2-C6 ₀ c ₀ a ₀ ATaacatggaatctCTCC	770_2

GN2 representa el clúster de GalNAc trivalente que se muestra en la figura 3, C6 representa un grupo amino alquilo con 6 carbonos, las letras mayúsculas representan nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras minúsculas representan nucleósidos de ADN, todos los LNA C son 5-metilcitosina, el subíndice 0 representa un enlace nucleosídico de fosfodiéster y, a menos que se indique de otro modo, los enlaces internucleosídicos son enlaces internucleosídicos de fosforotioato. Se muestran en las figuras 4 a 8 dibujos químicos que representan algunas de las moléculas.

Modelos de ratón VAA/VHB

10 Modelo de Pasteur:

Se crearon y se criaron ratones genomanipulados por desactivación de H-2 clase I/clase II, transgénicos para HLA-A2.1-/HLA-DR1 (a los que se hace referencia aquí como HLA-A2/DR1), en el Institut Pasteur. Estos ratones representan un modelo experimental *in vivo* para estudios de la función inmune humana sin ninguna interferencia con la respuesta del MHC del ratón (Pajot et al 2004 Eur J Immunol. 34 (11):3060-9).

En estos estudios se usó un vector vírico adenoasociado (VAA), serotipo 2/8 de VAA que porta un genoma de ADN del VHB competente para replicación. El vector VAA-VHB (lote GVPN n.º 6163) se diluyó en solución salina tamponada con fosfato (PBS) estéril para alcanzar un título de 5×10^{11} gv/ml. Se inyectó a los ratones por vía intravenosa (i.v.) 100 µl de esta solución diluida (dosis/ratón: 5×10^{10} gv) en una vena de la cola. Se detectaron partículas víricas completas que contenían ADN del VHB en la sangre de ratones portadores del VHB. El HBcAg se detectó durante hasta un año en el hígado conjuntamente con las proteínas circulantes del VHB HBsAg y HBeAg en la sangre. En todos los ratones transducidos con VAA2/8-VHB, el ADN del HBsAg, HBeAg y VHB persistió en el suero durante al menos un año (Dion et al 2013 J Virol 87:5554-5563).

25 Modelo de Shanghai:

En este modelo, los ratones infectados por un virus adenoasociado (VAA) recombinante que porta el genoma del VHB (VAA/VHB) mantienen una viremia y antigenemia estables durante más de 30 semanas (Dan Yang, et al. 2014 Cellular & Molecular Immunology 11,71-78).

Se compraron ratones macho C57BL/6 (4-6 semanas de edad), libres de patógenos específicos, de SLAC (Centro de Animales de Laboratorio de Shanghai de la Academia China de Ciencias) y se alojaron en una instalación de cuidado de animales en jaulas ventiladas individualmente. Se siguieron las pautas para el cuidado y uso de animales según lo indicado por WuXi IACUC (Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales, número de protocolo WUXI IACUC R20131126-Mouse). Se permitió que los ratones se aclimataran al nuevo entorno durante 3 días y se agruparon de acuerdo con el diseño experimental.

El VAA-VHB recombinante se diluyó en PBS, 200 µl por inyección. Este virus recombinante porta 1,3 copias del genoma del VHB (genotipo D, serotipo ayw).

El día 0, se inyectó a todos los ratones a través de la vena de la cola 200 µl de VAA-VHB. Los días 6, 13 y 20 después de la inyección del VAA, se extrajo sangre por vía submandibular a todos los ratones (0,1 ml de sangre/ratón) para la recogida de suero. El día 22 después de la inyección, los ratones con viremia estable estaban listos para el tratamiento con oligonucleótidos. Los oligonucleótidos pueden estar conjugados con GalNAc o no conjugados.

Vacuna de ADN

El ADN plasmídico estaba libre de endotoxinas y fue fabricado por Plasmid-Factory (Alemania). pCMV-S2.S ayw codifica los dominios preS2 y S del HBsAg (genotipo D), y su expresión está controlada por el promotor génico temprano inmediato del citomegalovirus (Michel et al 1995 Proc Natl Acad Sci USA92:5307-5311). pCMV-HBc codifica

la cápside del VHB que porta el Ag del núcleo de la hepatitis (HBc) (Dion et al 2013 J Virol 87:5554-5563).

El tratamiento con la vacuna de ADN se realizó como se describe aquí. Cinco días antes de la vacunación, se inyectó cardiotoxina (CaTx, Latoxan refl81-02, 50 µl/músculo) en el músculo de los ratones. CaTx despolariza las fibras musculares para inducir la degeneración celular, 5 días después de la inyección, aparecerán nuevas fibras musculares y recibirán la vacuna de ADN para una mejor eficacia de la transfección. El pCMV-S2.S ayw y pCMVCore a 1 mg/ml cada uno se mezclaron en igual cantidad y cada ratón recibió un total de 100 µg por inyección intramuscular bilateral en los músculos tibiales anteriores tratados con cardiotoxina como se describe previamente en Michel et al 1995 Proc Natl Acad Sci USA92:5307-5311, bajo anestesia (100 µl de 12,5 mg/ml de ketamina, 1,25 mg/ml de xilacina).

Anticuerpo anti-PD-L1

Este es un clon 6E11 de anticuerpo IgG1 anti-PD-L1 de ratón, producido internamente en Genetech. Es un anticuerpo sustituto que bloquea de forma cruzada el atezolizumab y tiene una actividad de bloqueo in vitro similar al atezolizumab producido internamente en Roche. El anticuerpo se administró mediante inyección intraperitoneal (i.p.) a una dosis de 12,5 µg/g.

Síntesis de oligonucleótidos

La síntesis de oligonucleótidos es, en general, conocida en la técnica. A continuación se muestra un protocolo que se puede aplicar. Los oligonucleótidos de la presente invención se pueden haber producido mediante procedimientos ligeramente variables en términos de aparato, soporte y concentraciones usados.

Los oligonucleótidos se sintetizan en soportes universales de uridina usando el enfoque de fosforamidita en un Oligomaker 48 a escala de 1 µmol. Al final de la síntesis, los oligonucleótidos se escinden del soporte sólido usando amoniaco acuoso durante 5-16 horas a 60 °C. Los oligonucleótidos se purifican mediante HPLC en fase inversa (RP-HPLC) o mediante extracciones en fase sólida y se caracterizan por UPLC, y la masa molecular se confirma además mediante ESI-MS.

Alargamiento del oligonucleótido:

El acoplamiento de β-cianoetil-fosforamiditas (ADN-A(Bz), ADN-G(ibu), ADN-C(Bz), ADN-T, LNA-5-metil-C(Bz), LNA-A(Bz), LNA-G(dmf) o LNA-T) se realiza usando una solución de 0,1 M de la amidita protegida con 5'-O-DMT en acetonitrilo y DCI (4,5-dicianoimidazol) en acetonitrilo (0,25 M) como activador. Para el ciclo final, se puede usar una fosforamidita con las modificaciones deseadas, por ejemplo, un conector C6 para unir un grupo de conjugado o un grupo de conjugado como tal. La tiolación para la introducción de enlaces fosforioato se lleva a cabo usando hidruro de xantano (0,01 M en acetonitrilo/piridina 9:1). Se pueden introducir enlaces fosfordiéster usando yodo 0,02 M en THF/piridina/agua 7:2:1. El resto de los reactivos son los que se usan típicamente para la síntesis de oligonucleótidos.

Para la conjugación posterior a la síntesis en fase sólida, se puede usar una fosforamidita como conector amino C6 comercialmente disponible en el último ciclo de la síntesis en fase sólida y después de la desprotección y escisión del soporte sólido se aísla el oligonucleótido desprotegido con enlace amino. Los conjugados se introducen por medio de la activación del grupo funcional usando procedimientos de síntesis estándar.

De forma alternativa, el resto de conjugado se puede añadir al oligonucleótido mientras todavía se encuentra en el soporte sólido usando una fosforamidita del clúser con GalNAc o GalNAc como se describe en PCT/EP2015/073331 o en la solicitud de EP n.º 15194811.4.

Purificación por RP-HPLC:

Los compuestos brutos se purifican mediante RP-HPLC preparativa en una columna Phenomenex Jupiter C18 10 µ 150x10 mm. Se usa acetato de amonio 0,1 M pH8 y acetonitrilo como tampones a un caudal de 5 ml/min. Las fracciones recogidas se liofilizan para dar el compuesto purificado típicamente como un sólido blanco.

Abreviaturas:

DCI: 4,5-dicianoimidazol

DCM: Diclorometano

DMF: Dimetilformamida

DMT: 4,4'-Dimetoxitritilo

THF: Tetrahidrofurano

Bz: Benzólo

Ibu: Isobutirilo

5 RP-HPLC: Cromatografía de líquidos de alta rendimiento en fase inversa

Ensayo de T_m

10 Se diluyen dúplex de oligonucleótidos y ARN diana (unidos a fosfato, PO) a 3 mM en 500 ml de agua sin RNasa y se mezclan con 500 ml de tampón de T_m 2x (NaCl 200 mM, EDTA 0,2 mM, nafosfato 20 mM, pH7,0). Se calienta la solución a 95 °C durante 3 min y a continuación se deja enfriar a temperatura ambiente durante 30 min. Las temperaturas de fusión (T_m) de los dúplex se midieron en un espectrofotómetro UV/VIS Lambda 40 equipado con un programador de temperatura Peltier PTP6 usando el programa informático PE TempLAB (Perkin Elmer). La temperatura se aumenta de 20 °C a 95 °C y a continuación baja a 25 °C, registrando la absorción a 260 nm. Se usan la primera derivada y los máximos locales tanto de la fusión como del enfriamiento para evaluar la T_m de los dúplex.

Ensayo *in vitro* de escisión del conector específico de tejido

20 Los oligonucleótidos marcados con FAM con el conector bioescindible que se va a someter a prueba (por ejemplo, un conector de fosfodiéster de ADN (conector PO)) se someten a escisión *in vitro* usando homogeneizados de los tejidos pertinentes (por ejemplo, hígado o riñón) y suero.

25 Se recogen las muestras de tejido y suero de un animal adecuado (por ejemplo, ratones, mono, cerdo o rata) y se homogeneizan en un tampón de homogeneización (Igepal CA-630 al 0,5 %, Tris 25 mM pH 8,0, NaCl 100 mM, pH8,0 (ajustado con NaOH 1 N). Se enriquecen los homogeneizados de tejido y el suero con oligonucleótido a concentraciones de 200 µg/g de tejido. Se incuban las muestras durante 24 horas a 37 °C y, después de esto, se extraen las muestras con fenol-cloroformo. Se someten las soluciones a análisis por AIE HPLC en un Dionex Ultimate 3000 usando una columna Dionex DNApac p-100 y un gradiente que varía de perclorato de sodio 10 mM a 1 M a pH7,5. Se determina el contenido de oligonucleótidos escindidos y no escindidos frente a un estándar usando tanto un detector de fluorescencia a 615 nm como un detector uv a 260 nm.

Ensayo de escisión por la nucleasa S1

35 Se someten oligonucleótidos marcados con FAM con conectores sensibles a la nucleasa S1 (por ejemplo, un conector de fosfodiéster de ADN (conector PO)) a escisión *in vitro* en extracto de nucleasa S1 o suero.

40 100 µM de los oligonucleótidos se someten a escisión *in vitro* por la nucleasa S1 en tampón de nucleasa (60 U pr. 100 µl) durante 20 y 120 minutos. Se detiene la actividad enzimática añadiendo EDTA a la solución tampón. Se someten las soluciones a análisis por AIE HPLC en un Dionex Ultimate 3000 usando una columna Dionex DNApac p-100 y un gradiente que varía de perclorato de sodio 10 mM a 1 M a pH7,5. Se determina el contenido de oligonucleótidos escindidos y no escindidos frente a un estándar usando tanto un detector de fluorescencia a 615 nm como un detector uv a 260 nm.

Preparación de células mononucleares de hígado

45 Se prepararon células de hígado de ratones VAA/VHB como se describe a continuación y de acuerdo con un procedimiento descrito por Tupin et al 2006 Methods Enzymol 417:185-201 con modificaciones menores. Después de sacrificar al ratón, se perfundió el hígado con 10 ml de PBS estéril a través de la vena porta hepática usando una jeringa con aguja G25. Cuando el órgano está pálido, se recogió el órgano en solución salina equilibrada de Hank (HBSS) (GIBCO® HBSS, 24020) + suero de ternero fetal descomplementado (FCS) al 5 %. Se presionó suavemente el hígado recogido a través de un filtro celular de 100 µM (BD Falcon, 352360) y se suspendieron las células en 30 ml de HBSS + FCS al 5 %. Se centrifugó la suspensión celular a 50 g durante 5 min. A continuación, se centrifugaron los sobrenadantes a 289 g durante 10 min a 4 °C. Después de la centrifugación, se descartaron los sobrenadantes y se resuspendieron los sedimentos en 15 ml a temperatura ambiente en una solución de Percoll isotónica al 35 % (GE Healthcare Percoll n.º 17-0891-01 diluido en RPMI 1640 (GIBCO, 31870)) y se transfirieron a un tubo de 15 ml. Se centrifugaron además las células a 1360 g durante 25 min a temperatura ambiente. Se descartó el sobrenadante por aspiración y el sedimento que contenía células mononucleares se lavó dos veces con HBSS + FCS al 5 %.

60 Se cultivaron las células en medio completo (medio esencial mínimo α (Gibco, 22571) complementado con FCS al 10 % (Hyclone, n.º SH30066, lote APG21570), 100 U/ml de penicilina + 100 µg/ml de estreptomina + 0,3 mg/ml de L-glutamina (Gibco, 10378), 1X aminoácidos no esenciales (Gibco, 11140), Hepes 10 mM (Gibco, 15630), piruvato de sodio 1 mM (Gibco, 11360) y β -mercaptoetanol 50 µM (LKB, 1830)).

Marcado de células en la superficie

65 Se sembraron las células en placas de 96 pocillos con fondo en U y se lavaron con PBS FACS (PBS que contenía

seroalbúmina bovina al 1 % y azida sódica al 0,01 %). Se incubaron las células con 5 µl de PBS FACS que contenía un anticuerpo de rata anti-CD16/CD32 de ratón y un marcador de viabilidad LD amarillo fijable, Thermofisher, L34959 durante 10 min en la oscuridad a 4 °C. A continuación, se tiñeron las células durante 20 min en la oscuridad a 4 °C con 25 µl de PBS FACS que contenía anticuerpos monoclonales (Mab) contra NK P46 BV421 (Mab de rata anti-NK P46 de ratón, Biolegend, 137612) y F4/80 (Mab de rata anti-F4/80 FITC de ratón, BD Biolegend, 123108) y dos marcadores de superficie suplementarios: también se añadieron PD1 (Mab de rata anti-PD1 PE de ratón, BD Biosciences, 551892) y PDL1 (Mab de rata anti-PDL1 BV711 de ratón, Biolegend, 124319).

Ensayo de tinción de citocinas intracelulares (ICS)

Se realizaron ensayos de ICS tanto en esplenocitos como en células mononucleares del hígado. Se sembraron las células en placas de 96 pocillos con fondo en U. Se incubaron Las placas con células durante la noche a 37 °C en medio completo solo como control negativo o con los péptidos descritos en la Tabla 9 a una concentración de 2 µg/ml. Se añadió brefeldina A a 2 µg/ml (Sigma, B6542) después de una hora de incubación.

Después del cultivo durante la noche, se lavaron las células con PBS FACS y se incubaron con 5 µl de PBS FACS que contenía anticuerpo de rata anti-CD16/CD32 de ratón y un marcador de viabilidad LD amarillo fijable, Thermofisher, L34959 durante 10 min en la oscuridad a 4 °C. A continuación, se tiñeron las células durante 20 min en la oscuridad a 4 °C con 25 µl de PBS FACS que contenía Mab. La mezcla estaba compuesta por anticuerpos monoclonales contra CD3 (Mab de hámster anti-CD3-PerCP de ratón, BD Biosciences, 553067), CD8 (Mab de rata anti-CD8-APC-H7 de ratón, BD Biosciences, 560182), CD4 (Mab de rat anti-CD4-PE-Cy7 de ratón, BD Biosciences, 552775) y linfocitos NK (Mab de rata anti-NK P46 BV421 de ratón, Biolegend, 137612). Se fijaron las células después de varios lavados y se permeabilizaron durante 20 min en la oscuridad a temperatura ambiente con Cytofix/Cytoperm, se lavaron con solución Perm/Wash (BD Biosciences, 554714) a 4 °C.

Se realizó la tinción de citocinas intracelulares con anticuerpos contra IFNγ (Mab de rata anti-IFNγ-APC de ratón, clon XMG1.2, BD Biosciences, 554413) y factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) (Mab de rata anti-TNFα-FITC de ratón, clon MP6-XT22; 1/250 (BD Biosciences 554418) durante 30 min en la oscuridad a 4 °C. Antes del análisis por citometría de flujo usando el analizador MACSOuant, se lavaron las células con Perm/Wash y se resuspendieron en PBS FACS que contenía formaldehído al 1 %.

Se seleccionaron CD3+CD8+CD4- y células CD3+CD8-CD4+ vivas y se presentaron en una curva de puntos. Se definieron dos regiones para seleccionar células positivas para cada citocina. El número de eventos encontrados en estas ventanas se dividió entre el número total de eventos en la población parental para proporcionar los porcentajes de linfocitos T que respondieron. Para cada ratón, el porcentaje obtenido en medio solo se consideró el fondo y se restó del porcentaje obtenido con estimulaciones peptídicas.

Se definió el umbral de positividad de acuerdo con los antecedentes del experimento, es decir, el porcentaje medio de células teñidas obtenido para cada grupo en condición de medio solo más dos desviaciones estándar. Solo el porcentaje de citocinas que representó al menos 5 eventos se consideró positivo.

Tabla 9: Epítomos restringidos a HLA-A2/DR1 contenidos en la proteína del núcleo del VHB y los dominios de la envoltura del HBsAg (S2+S).

Proteína	Posición inicial	Posición final	Secuencia	Restricción de HLA	Referencias
Núcleo	18	27	FLPSDFFPSV (SEQ ID NO: 773)	A2	Bertoletti et al Gastroenterology 1997;112:193-199
	111	125	GRETVLEYLVSFGVW (SEQ ID NO: 774)	DR1	(Bertoletti et al Gastroenterology 1997; 112:193-199
Envoltura (S2+S)	114	128	TTFHQTLQDPRVRGL (SEQ ID NO: 775)	DR1	Pajot et al Microbes Infect 2006;8:2783-2790.
	179	194	QAGFFLLTRILTIPQS (SEQ ID NO: 776)	A2 + DR1	Pajot et al Microbes Infect 2006;8:2783-2790.
	183	191	FLLTRILTI (SEQ ID NO: 777)	A2	Sette et al J Immunol 1994;153:5586-5592.
	200	214	TSLNFLGGTTVCLGQ (SEQ ID NO: 778)	A2 + DR1	Pajot et al Microbes Infect 2006;8:2783-2790.
	204	212	FLGGTTVCL (SEQ ID NO: 779)	A2	Rehermann et al J Exp Med 1995;181: 1047-1058.

Proteína	Posición inicial	Posición final	Secuencia	Restricción de HLA	Referencias
	335	343	WLSLLVPFV (SEQ ID NO: 780)	A2	Nayersina et al J Immunol 1993;150: 4659-4671.
	337	357	SLLVPFVQWFVGLSPTVWLSV (SEQ ID NO: 781)	A2 + DR1	Loirat et al J Immunol 2000;165: 4748-4755
	348	357	GLSPTVWLSV (SEQ ID NO: 782)	A2	Loirat et al J Immunol 2000; 165: 4748-4755
	370	379	SILSPFLPLL (SEQ ID NO: 783)	A2	Mizukoshi et al J Immunol 2004;173: 5863-5871.

Ejemplo 1 Prueba de eficacia *in vitro*

5 Se realizó un recorrido génico a través del transcrito de PD-L1 humano principalmente usando gapmeros de 16 a 20 nucleótidos. La prueba de eficacia se realizó en un experimento *in vitro* en la línea celular de leucemia monocítica humana THP1 y en la línea celular de linfoma K no hodgkiniano humano (KARPAS-299).

Líneas celulares:

10 La línea celular THP1 y Karpas-299 se compraron originalmente de la Colección Europea de Cultivos Celulares Autenticados (ECACC) y se mantuvieron según lo recomendado por el proveedor en una incubadora humidificada a 37 °C con un 5 % de CO₂.

Eficacia de los oligonucleótidos

15 Se añadieron células THP-1 (3.104 en RPMI-GLutamax, FBS al 10 %, Pen-Strep al 1 % (Thermo Fisher Scientific) a los oligonucleótidos (4-5 ul) en placas de fondo redondo de 96 pocillos y se cultivaron durante 6 días en un volumen final de 100 µl/pocillo. Se cribaron los oligonucleótidos a una concentración única (20 µM) y en concentraciones en el intervalo de dosis de 25 µM a 0,004 µM (dilución 1:3 en agua). Se extrajo el ARNm total usando el kit de gran volumen de ARN celular MagNA Pure 96 en el sistema MagNA Pure 96 (Roche Diagnostics) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

20 Para el análisis de expresión génica, se realizó RT-qPCR usando el kit TaqMan RNA-to-ct 1-Step (Thermo Fisher Scientific) en la máquina QuantStudio (Applied Biosystems) con cebadores Taqman prediseñados dirigidos a PDL1 y ACTB humanos usados como control endógeno (Thermo Fisher Scientific). Se calculó el nivel relativo de expresión de ARNm de PD-L1 usando el procedimiento 2(-Delta C(T)) y el porcentaje de inhibición como el % en comparación con la muestra de control (células no tratadas).

30 Se cultivaron células Karpas-299 en RPMI1640, glutamina 2 mM y FBS al 20 % (Sigma). Se sembraron las células a 10000 células/pocillo en placas de 96 pocillos incubadas durante 24 horas antes de la adición de oligonucleótidos disueltos en PBS. La concentración final de oligonucleótidos fue en una dosis única de 5 µM, en un volumen de cultivo final fue de 100 µl/pocillo o se añadió en un intervalo de respuesta a la dosis de 50 µM, 15,8 µM, 5,0 µM, 1,58 µM, 0,5 µM, 0,158 µM, 0,05 µM, a 0,0158 µM en 100 µl de volumen de cultivo. Se recogieron las células 3 días después de la adición de compuestos de oligonucleótidos y se extrajo el ARN usando el kit PureLink Pro 96 RNA Purification (Ambion), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se sintetizó el ADNc usando retrotranscriptasa M-MLT, decámeros aleatorios RETROscript, inhibidor de RNasa (Ambion) y un conjunto de dNTP 100 mM (Invitrogen, grado para PCR) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para el análisis de expresiones génicas, se realizó la qPCR usando TaqMan Fast Advanced Master Mix (2X)(Ambion) en una configuración en dúplex con ensayos con cebadores TaqMan para PD-L1 (Applied Biosystems; Hs01125299_m1) y TBP (Applied Biosystems; 4325803). El nivel relativo de expresión de ARNm de PD-L1 se muestra en la tabla 10 como % de la muestra de control (células tratadas con PBS).

45 Tabla 10: eficacia *in vitro* de compuestos anti-PD-L1 en líneas celulares THP1 y KARPAS-299 (promedio de n=3 experimentos). Los niveles de ARNm de PD-L1 se normalizan a TBP en células KARPAS-299 o ACTB en células THP1 y se muestran como % de control (células tratadas con PBS).

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
4_1	50	1	32	11	TAAatggctctacTGC	236
5_1	25	5	9	6	TCGCataagaatgaCT	371

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
6_1	29	2	15	5	TGaacacacagtcgCA	382
7_1	27	7	3	1	CTGaacacacagtCGC	383
8_1	23	4	11	3	TCTgaacacacagtCG	384
9_1	32	3	19	6	TTCTgaacacacagTC	385
10_1	57	5	39	16	ACAagtcagttaCTA	463
11_1	75	5	37	12	ACacaagtcagtAC	465
12_1	22	2	10	3	CTtacttagatgcTGC	495
13_1	33	4	23	11	ACTtacttagatgCTG	496
14_1	33	7	21	6	GACTtacttagatgCT	497
15_1	41	6	18	10	AGacttacttagaTGC	498
16_1	96	14	40	7	GCAggaagagactTAC	506
17_1	22	2	9	3	AATAaattccgttCAGG	541
18_1	34	6	21	9	GCAAataaattcCGTT	545
18_2	51	4	27	11	GCAAataaattccGTT	545
19_1	38	5	23	7	AGCAAataaattcCGT	546
20_1	73	8	56	15	CAGAgcaaataaatTCC	548
21_1	83	8	65	10	TGGAcagagcaaataAAT	551
22_1	86	6	80	8	ATGGacagagcaAATA	554
23_1	44	4	30	2	CAGaatggacagaGCA	558
24_1	63	10	40	11	TTCTcagaatggacAG	562
25_1	31	1	39	5	CTGAacttgacATAG	663
26_1	60	4	56	19	AAGacaaaccagacTGA	675
27_1	36	4	34	10	TATAagacaaaccAGAC	678
28_1	40	4	28	13	TTATAagacaaaccAGA	679
29_1	30	2	18	6	TGTTataagacaaaCCC	682
30_1	77	3	67	10	TAGAacaatggtaCTTT	708
31_1	81	17	20	14	GTAGaacaatggtaCT	710
32_1	29	5	14	8	AGGtagaacaatgGTA	712
33_1	32	1	43	20	AAGAggtagaacaATGG	714
34_1	70	4	35	13	GcatccacagtaaaTT	749
35_1	83	2	66	21	GAaggtatttaaTTC	773
36_1	18	2	15	5	CTAAtcgaatgcaGCA	805
37_1	64	7	35	10	TACccaatctaatCGA	813
38_1	69	1	49	13	TAGTtaccatcTAA	817
39_1	49	5	26	9	CATttagttaccAAT	821
40_1	23	7	8	2	TCAtttagttaccCAA	822

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
41_1	24	6	12	3	TTcatttagttaCCCA	823
42_1	51	7	40	5	GAATtaatttcattTAGT	829
43_1	71	9	45	3	CAGTgaggaattaATTT	837
44_1	60	5	45	17	CCAAcagtgaggAATT	842
45_1	63	1	37	15	CCCaacagtgaggAAT	843
46_1	31	3	29	12	TAtaccaacagtgAGG	846
47_1	44	3	27	0	TTataccaacagTGAG	847
48_1	38	3	26	6	TTTataccaacagTGA	848
49_1	20	4	7	1	CCTttatacccaaCAG	851
50_1	22	3	6	2	TAAcctttataCCAA	854
51_1	28	1	29	16	AATaaccittataCCCA	855
52_1	80	11	48	10	GTAaataacctttaTA	859
53_1	54	4	37	14	ACTGtaaataacctTTAT	860
54_1	81	4	53	15	ATAtatatgcaatgAG	903
55_1	86	12	70	15	AGatataatgcaaTG	905
56_1	56	8	27	7	GAGatataatgcaAAT	906
57_1	28	7	13	5	CCagagatatataTGC	909
58_1	88	13	69	23	CAATattccagagATAT	915
59_1	29	3	14	6	GCAAatattccagagATA	916
60_1	25	3	14	3	AGCaatattccagaGAT	917
61_1	29	4	17	2	CAGcaatattccAGAG	919
62_1	27	3	14	3	AATCagcaatattCCAG	921
63_1	23	6	12	6	ACAAtcagcaataTTCC	923
64_1	53	9	43	15	ACTaagtagttacactTCT	957
65_1	32	5	14	6	CTAAgtagttacactTC	958
66_1	35	4	31	6	GACTaagtagttacaCTT	959
67_1	64	10	55	14	TGActaagtagtTACA	962
68_1	62	11	57	16	CTTTgactaagtagTTA	964
69_1	42	9	59	13	CTCtttgactaagTAG	967
70_1	81	6	56	12	GCTCtttgactaagTA	968
71_1	27	3	39	9	CCtaaatactgtTGAC	1060
72_1	75	5	36	7	CTtaaatactgttgAC	1060
73_1	35	6	43	13	TCCtaaatactgTTG	1062
74_1	57	4	79	25	TCTCcttaaatactgTT	1063
75_1	53	6	28	6	TATcatagttctCCTT	1073
76_1	26	4	9	2	AGTatcatagttcTCC	1075

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
77_1	74	5	39	12	GAgatcatagttCTC	1076
78_1	49	5	35	6	AGagtcatagTTCT	1077
78_2	74	6	36	8	AGAgatcatagTCT	1077
79_1	19	2	19	13	CAGagtcatagTTC	1078
80_1	23	2	26	2	TTCAgagtacataGT	1080
81_1	35	3	36	11	CTTcagagtacATAG	1081
82_1	24	6	20	7	TTCTcagagtacaTA	1082
83_1	20	2	16	2	TTTctcagagtaTCAT	1083
84_1	33	4	37	10	GAGAaaggctaagTTT	1099
85_1	42	2	35	18	GAcactctgtaCATT	1213
86_1	50	4	54	8	TGagacactctgtaCA	1215
87_1	50	8	28	8	TGagacactctgTAC	1216
88_1	61	4	33	6	CTttattaaactCCAT	1266
89_1	71	8	43	12	ACCAaactttattaAA	1272
90_1	62	5	42	9	AAACctctactaagTG	1288
91_1	22	3	12	5	AGattaagacagtTGA	1310
92_1	46	3	ND	ND	AAgtaggagcaagaGGC	1475
93_1	42	4	60	24	AAAGtaggagcaagAGG	1476
94_1	86	15	46	10	GTtaagcagccaggAG	1806
95_1	66	6	82	27	AGgtaggatgggTAG	1842
96_1	83	19	62	36	AAGgtaggatgggTA	1843
97_1	60	9	69	5	CAAggtaggatggGT	1844
97_2	76	13	34	7	CAAggtaggatggGT	1844
98_1	65	8	76	28	CCaaggtaggatgGG	1845
99_1	61	2	75	17	TCcaaggtaggatGG	1846
100_1	83	4	82	13	CTTCcaaggtaggAT	1848
101_1	45	3	52	14	ATCttcaaggtagGA	1849
102_1	29	2	17	7	AGaagtgatggctCATT	1936
103_1	26	3	22	1	AAGAagtgatggcTCAT	1937
104_1	34	6	22	2	GAAgaagtgatggcTCA	1938
105_1	41	5	21	5	ATGAaatgtaaacTGGG	1955
106_1	40	8	29	6	CAATgaaatgtaaaCTGG	1956
107_1	24	3	16	4	GCAATgaaatgtaaACTG	1957
108_1	30	4	20	6	AGCAatgaaatgtaAACT	1958
109_1	44	4	34	14	GAGCaatgaaatgtAAAC	1959
110_1	18	1	13	3	TGaattccatatacCGA	1992

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
111_1	69	8	35	8	AGaattatgaccaTAT	2010
112_1	77	7	38	10	AGGtaagaattatGACC	2014
113_1	97	10	56	13	TCAGgtaagaattaTGAC	2015
114_1	69	8	54	21	CTTCaggaagaatTATG	2017
115_1	91	7	115	42	TCTTcaggaagaATTA	2019
116_1	88	6	104	36	CTTctcaggaagaGAAT	2021
117_1	85	6	118	17	TCTTctcaggaagaGAA	2022
118_1	105	14	102	9	TCTtctcaggaagaAGA	2023
119_1	37	2	76	18	TGGtctaagagaaGAAG	2046
120_1	46	6	81	11	GTTGgtctaagagAAG	2049
121_1	74	11	64	4	AGTtggctaaAGAA	2050
122_1	74	9	55	21	CAGttggctaaAGAA	2050
123_1	65	9	95	21	GCAgttggctaaAGAA	2050
124_1	63	7	ND	ND	CAGTtggctaaAGA	2051
125_1	65	6	ND	ND	GCagttggctaaAGA	2051
126_1	67	14	104	34	GCagttggctaaGAG	2052
127_1	22	6	10	3	CTcatatcagggCAGT	2063
128_1	50	4	46	9	CACAcatgttcttaAC	2087
129_1	22	4	12	12	TAAatacacacatgTTCT	2092
130_1	24	2	43	28	GTAAatacacacatgTTC	2093
131_1	33	3	20	12	TGTAatacacacaTGTT	2094
132_1	73	17	57	21	GATCatgtaatacACAC	2099
133_1	47	5	28	14	AGATcatgtaataCACA	2100
134_1	35	6	26	11	CAAagatcatgtaatacACAC	2101
135_1	30	2	14	3	ACAagatcatgtaataTACA	2102
136_1	52	6	24	18	GAATacaaagatcaTGTA	2108
137_1	33	5	20	6	AGAAtacaaagatcATGT	2109
138_1	37	1	22	15	CAGAatacaaagatCATG	2110
139_1	85	6	53	8	GCAGaatacaaagATCA	2112
140_1	79	4	40	6	AGGCagaatacaaagAT	2114
141_1	56	2	53	20	AAGGcagaatacaaAGA	2115
142_1	28	5	20	5	ATTagtgaggacGAA	2132
143_1	26	2	22	10	CATTagtgaggacCGA	2133
144_1	29	6	16	4	GAggtgatgatTAG	2218
145_1	45	6	22	5	TTaggagtaataAAGG	2241
146_1	65	7	44	9	TTAatgaatttggTG	2263

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
147_1	84	8	43	10	CTtaatgaatttgGT	2265
148_1	32	0	15	3	CATGgattacaactAA	2322
149_1	33	2	20	4	TCatggattacaaCTA	2323
150_1	29	1	11	3	GTCatggattacaaCT	2324
151_1	64	2	40	9	CAttaaatctagTCAT	2335
152_1	97	8	63	22	GACAttaaatctagTCA	2336
153_1	92	7	ND	ND	AGGGacattaaatcTA	2340
154_1	35	4	25	15	CAAAGcattataaCCA	2372
155_1	34	3	24	6	ACttactaggcaGAAG	2415
156_1	102	6	113	18	CAGAgttaactgtaCA	2545
157_1	102	10	103	15	CCAGagttaactgtAC	2546
158_1	88	7	95	18	GCcagagttaactgTA	2547
159_1	78	10	ND	ND	TGggccagagtaaCT	2550
160_1	59	5	26	5	CAGcatctatcagaCT	2576
161_1	78	8	42	10	TGAaataacatgagTCAT	2711
162_1	31	6	ND	ND	GTGaaataacatgAGTC	2713
163_1	18	2	11	3	TCTGtttatgtcacTG	2781
164_1	56	5	29	9	GTCTgtttatgtcaCT	2782
165_1	37	8	12	5	TGgtctgtttatGTCA	2784
166_1	39	1	19	3	TTGGtctgtttatgTC	2785
167_1	41	3	35	14	TCaccattgtttaAA	2842
168_1	18	3	14	4	TTcagcaaatatTCGT	2995
169_1	36	8	13	2	GTGgttcagcaaATAT	2999
170_1	18	2	11	4	TCTattgtaggtATC	3053
171_1	67	4	26	12	ATtgcccatcttacTG	3118
172_1	71	2	33	9	TATtgcccatcttaCT	3119
173_1	47	4	20	5	AAatattgcccatCTT	3122
174_1	74	4	34	7	ATAaccttatcataCA	3174
175_1	98	19	44	12	TAtaaccttatcaTAC	3175
176_1	100	10	64	11	TTAtaaccttatcaTA	3176
177_1	72	38	28	5	TTTataaccttatCAT	3177
178_1	47	6	34	6	ACTgctattgctaTCT	3375
179_1	41	3	23	6	AGgactgctattgCTA	3378
180_1	32	6	27	7	GAGgactgctattgCT	3379
181_1	83	1	46	20	ACgtagaataataaCA	3561
182_1	94	4	52	9	CCaagtgatataATGG	3613

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
183_1	49	2	16	3	TtagcagaccaaGTGA	3621
184_1	96	3	26	5	GTtagcagaccaaGT	3623
185_1	78	3	46	10	TGacagtgattataTT	3856
186_1	88	5	45	21	TGTCcaagatattgAC	3868
187_1	46	6	23	6	GAAatcctagatTGT	4066
188_1	79	3	45	14	CAaactgagaataTCC	4074
189_1	63	5	27	8	GCAaactgagaataTC	4075
190_1	77	9	37	11	TCCtattacaatcgTA	4214
191_1	74	10	36	9	TTCCtattacaatcGT	4215
192_1	91	8	51	28	ACtaatgggaggatTT	4256
193_1	95	14	67	24	TAgttcagagaataAG	4429
194_1	86	5	47	16	TAacatatagttcAGA	4436
195_1	87	4	81	20	ATAacatatagttcAG	4437
196_1	101	6	67	20	CAtaacatatagttCA	4438
197_1	91	6	60	13	TCataacatatagtTC	4439
198_1	61	3	31	10	TAGCtctaacaatCA	4507
199_1	79	12	49	11	CTCCaatctttgtaTA	4602
200_1	74	2	58	13	TCTCcaatctttgtaAT	4603
201_1	53	3	33	10	TCtatttcagccaaTC	4708
202_1	25	4	30	9	CGGaagtcagagtGAA	4782
203_1	32	5	21	7	TTAAgcatgaggaaTA	4798
204_1	34	10	26	11	TGAttgagcacctCTT	4831
205_1	81	12	62	12	GACtaattatttcgTT	4857
206_1	57	7	37	7	TGActaattatttCGT	4858
207_1	26	5	21	6	GTGactaattattTCG	4859
208_1	48	3	33	13	CTGCttgaaatgtgAC	4870
209_1	32	1	34	13	CCTgcttgaaatgTGA	4871
210_1	60	5	50	19	ATcctgcttgaaATGT	4873
211_1	111	8	110	26	ATTataaatctatTCT	5027
212_1	107	1	67	12	GCTaaactttcATC	5151
213_1	26	3	19	6	CAttgtaacataCCTA	5251
214_1	33	2	20	4	GCattgtaacatacCT	5252
215_1	89	8	53	16	TAatattgcaccaaAT	5295
216_1	25	2	29	9	GATAatattgcacCAA	5297
217_1	27	1	27	6	AGataatattgcacCA	5298
218_1	79	6	45	11	GCcaagaagataATAT	5305

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
219_1	159	16	68	14	CACAgccacataaaCT	5406
220_1	90	2	72	12	TTgtaattgtggaaAC	5463
221_1	10	2	11	5	TGacttgtaattgTGG	5467
222_1	82	1	67	18	TCtaactgaaatagTC	5503
223_1	30	1	32	9	GTGgttctaactgaAA	5508
224_1	53	7	53	15	CAaatgggacttgGT	5522
225_1	44	1	33	10	ATGacaatatgggaCT	5526
226_1	49	1	41	14	TATGacaatatgggAC	5527
227_1	77	1	54	15	ATATgacaatatggGA	5528
228_1	100	3	98	29	CTtcacttaataaTTA	5552
229_1	90	12	80	19	CTGCttcacttaataAA	5555
230_1	91	0	79	23	AAgactgcttcacTTA	5559
231_1	49	8	77	34	GAATgcccctaattaTG	5589
232_1	17	7	88	33	TGGaatgccctaataTA	5591
233_1	40	5	35	10	GCAaatgccagtagGT	5642
234_1	81	6	72	25	CTAatggaaggattTG	5673
235_1	97	17	87	25	AAatagaacctaaTG	5683
236_1	98	4	83	21	GAAagaatagaatGTT	5769
237_1	93	2	102	26	ATGggaatagattAT	5893
238_1	110	24	44	14	GAaagagcacagggTG	6103
239_1	66	5	36	10	CTACatagagggaaTG	6202
240_1	70	4	34	8	GCTtcctacataGAGG	6207
241_1	64	NA	33	6	TGCTtcctacatagAG	6208
242_1	30	NA	19	7	TGggcttgaataTGT	6417
243_1	88	6	69	15	CATtatatttaagaAC	6457
244_1	8	2	5	2	TCggfjatgtaTCAT	6470
245_1	18	9	12	4	CActttatctggTCGG	6482
246_1	37	2	19	5	AAAttggcacagcGTT	6505
247_1	46	12	29	8	ACCGtgacagtaaATG	6577
248_1	31	2	25	2	TGggaaccgtgacagTA	6581
249_1	17	2	23	9	CCacatataggtcCTT	6597
250_1	15	6	23	7	CAattgctaccaTAC	6617
251_1	4	2	9	2	TCAtattgctaccATA	6618
252_1	65	12	85	14	CAATgtcataTGCT	6624
253_1	20	2	51	7	CATtcaattgtcataTTG	6626
254_1	48	8	91	41	TTTCtactgggaaTTTG	6644

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
255_1	11	5	23	8	CAAttagtcagcCAG	6672
256_1	43	7	62	13	GAATaatgttctaTCC	6704
257_1	28	2	36	19	CACAaaitgaataaigtTCT	6709
258_1	64	4	78	22	CATGcacaattgaaTAAT	6714
259_1	53	8	104	73	ATCctgcaattcaCAT	6832
260_1	54	5	59	14	CCaccatagctgatCA	6868
261_1	42	8	52	22	ACcaccatagctgaTCA	6868
262_1	68	5	118	66	CaccaccatagctgaTC	6869
263_1	40	2	73	20	TAgtcggcaccaccAT	6877
264_1	64	6	72	35	CttgtagtcggcaccAC	6880
265_1	56	4	82	35	CttgtagtcggcacCA	6881
266_1	41	5	46	21	CGctttagtcggcAC	6883
267_1	51	4	33	14	TCAataaagatcagGC	6942
268_1	61	2	49	10	TGgacttacaagaaTG	6986
269_1	45	7	40	9	ATGgacttacaagaAT	6987
270_1	51	12	36	12	GCTCaagaaattggAT	7073
271_1	17	0	14	5	TACTgtagaacatgGC	7133
272_1	15	3	11	3	GCAAttcattgaTCT	7239
273_1	64	11	ND	ND	TGaagggaggaggacAC	7259
274_1	52	6	50	28	AGtggtgaagggaggAG	7265
275_1	79	7	ND	ND	TAgtggtgaagggaggAG	7265
276_1	81	6	ND	ND	AtagtggtgaagggaggAG	7265
277_1	70	9	ND	ND	TAgtggtgaagggagGA	7266
278_1	84	9	ND	ND	ATagtggtgaagggagGA	7266
279_1	40	6	64	53	TAGtggtgaagggagGA	7267
280_1	42	10	ND	ND	ATAgtggtgaagggagGA	7267
281_1	63	7	ND	ND	GAtagtggtgaagggagGA	7267
282_1	27	7	38	11	ATAGtggtgaagggagAG	7268
283_1	60	22	ND	ND	GAtagtggtgaaggGAG	7268
284_1	23	3	97	54	GAgatagtggtgAAGG	7271
285_1	51	6	72	19	CATGggagatagtgGT	7276
286_1	7	1	21	9	ACAAataatggttaCTCT	7302
287_1	66	8	48	20	ACACacaataatgGTTA	7306
288_1	67	6	58	20	GAGggacacacaaaTAAT	7311
289_1	46	2	50	21	ATATagagaggcTCAA	7390
290_1	22	6	ND	ND	TTgatatagagaGGCT	7393

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
291_1	11	2	17	3	GCATtTgatatagAGA	7397
292_1	70	18	44	8	TTTgcatttgataTAG	7400
293_1	30	1	30	9	CTGgaagaataggTC	7512
294_1	53	5	42	10	ACTGgaagaataggTT	7513
295_1	56	2	41	15	TACTggaagaatagGT	7514
296_1	80	8	53	13	TGGCttatcctgtaCT	7526
297_1	73	6	52	14	ATggcttatcctGTAC	7527
298_1	75	7	89	25	TATGgcttatcctgTA	7528
299_1	52	5	50	11	GTAaggcttatccTGT	7529
300_1	27	3	31	6	ATgaatatatgccCAGT	7547
301_1	41	8	33	9	GATgaatatatgCCCA	7549
302_1	8	2	ND	ND	CAAgatgaatataTGCC	7551
303_1	32	5	37	14	GACAacatcagtaTAGA	7572
304_1	28	5	30	23	CAAGacaacatcAGTA	7576
305_1	47	5	41	9	CACtcttagttccTTT	7601
306_1	39	6	33	7	AACactcctagttCCT	7603
307_1	68	3	42	14	TAacactcctagttCC	7604
308_1	115	5	69	22	CTaacactcctagttC	7605
309_1	97	16	57	14	TGataacataactgTG	7637
310_1	36	1	23	10	CTgataacataaCTGT	7638
311_1	38	5	24	5	TTTGaactcaagtGAC	7654
312_1	42	3	39	5	TCCTttacttagcTAG	7684
313_1	15	2	14	3	GAGtttgattagCTG	7764
314_1	49	28	ND	ND	TGggatagacagGGA	7838
315_1	34	6	ND	ND	TGTGggatagacaGG	7840
316_1	47	3	37	8	ATATggaagggataTC	7875
317_1	11	3	ND	ND	ACAggatatggaaGGG	7880
318_1	48	4	ND	ND	ATTTcaacaggatATGG	7885
319_1	18	2	16	4	GAGtaattcaacAGG	7891
320_1	74	6	44	5	AGGGagtaattcAACA	7893
321_1	38	5	56	28	ATTAgggagtaatTTCA	7896
322_1	66	9	32	11	CTtactattaggGAGT	7903
323_1	13	1	15	5	CAGcttactattaGGG	7906
324_1	26	4	20	9	TCAgcttactattAGG	7907
325_1	43	4	17	2	ATTTcagcttactaTTAG	7908
326_1	54	5	57	16	TTcagcttactaTTAG	7908

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
327_1	28	3	8	2	CAGAttcagcttaCT	7913
328_1	43	4	37	16	GACtacaactagagGG	7930
329_1	45	12	36	10	AGACTacaactagaGG	7931
330_1	99	8	94	32	AAgactacaactagAG	7932
331_1	59	4	52	19	ATGAtttaatttctagtCAA	7982
332_1	100	2	84	23	TTTaatcttagtcAAA	7982
333_1	91	9	60	19	GATTtaattctaGTCA	7984
771_1	74	6	50	5	TGAtttaattctaGTCA	7984
334_1	73	5	54	12	ATGAtttaattctagTCA	7984
335_1	15	1	26	3	GATGatttaattctagtCA	7984
336_1	71	22	49	16	GAtttaattctaGTCA	7984
337_1	43	5	30	11	GATGatttaattctaGTC	7985
338_1	98	5	90	27	TGatttaattctagTC	7985
339_1	87	21	86	2	GAGAtgatttaatTCTA	7988
340_1	92	5	85	27	GAGatgatttaatTCT	7989
341_1	7	1	7	1	CAGAttgatggttagTT	8030
342_1	7	2	24	11	CTcagattgatgGTAG	8032
343_1	3	1	14	9	GTTagccctcagaTTG	8039
344_1	14	5	20	7	TGtattgttagcCCTC	8045
345_1	10	2	11	5	ACTgtattgttAGCC	8048
346_1	52	4	52	17	AGCcagtatcagggAC	8191
347_1	33	3	18	8	TTgacaatagtgGCAT	8213
348_1	7	2	13	5	ACAagtggatatctTCT	8228
349_1	63	8	44	15	AATCtactttacaaGT	8238
350_1	36	2	ND	ND	CAcagtagatgcctGATA	8351
351_1	24	2	30	9	GAacacagtagatGCC	8356
352_1	23	4	103	14	CTTGgaacacagtagAT	8359
353_1	20	2	45	2	ATAtcttgaacaCAG	8364
354_1	25	3	24	6	TCTtaatatcttgGAAC	8368
355_1	39	2	41	10	TGatttcttaatatCTTG	8372
356_1	54	5	88	43	TGatgatttcttaTATC	8375
357_1	31	4	45	27	AGGctaagtcatgaTG	8389
358_1	18	3	43	20	TTGAtgaggctaagTC	8395
359_1	6	2	11	2	CCAggattatactTT	8439
360_1	43	5	40	14	GCcaggattataCTCT	8440
361_1	56	8	73	13	CTGccaggattataCT	8442

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
362_1	23	1	33	7	CAGAAacttatactttaTG	8473
363_1	49	8	45	14	AAGCagaaacttaTACT	8478
364_1	39	6	37	4	GAAGcagaaacttaTACT	8478
365_1	26	4	45	13	TGGAagcagaaacttataCT	8478
366_1	21	4	44	5	TGGAagcagaaacttaTAC	8479
367_1	97	4	70	22	AAGcagaaacttaTAC	8479
368_1	34	3	32	11	TGGAagcagaaactTATA	8480
369_1	71	7	46	19	AAGGgatattatggAG	8587
370_1	51	9	79	38	TGccggaagatttcCT	8641
371_1	45	6	52	25	ATGGattgggagtaGA	8772
372_1	27	7	30	8	AGatggattgggagTA	8774
373_1	13	3	28	6	AAGatggattgggaGT	8775
374_1	42	10	44	11	ACAagatggattGGGA	8777
374_2	41	3	45	14	ACAagatggattggGA	8777
375_1	83	9	88	32	AGAaggtcagaCTTT	8835
376_1	40	5	33	3	GCAGAaggttcagaCT	8837
376_2	28	5	20	4	GCagaaggttcagACT	8837
377_1	70	2	43	8	TGCAGAaggttcagAC	8838
378_1	23	3	55	17	AGTgcagaaggttCAG	8840
378_2	51	6	41	8	AGTgcagaaggttCAG	8840
379_1	34	6	35	7	AAGTgcagaaggttCA	8841
380_1	44	11	24	6	TAagtgcagaagGTTC	8842
381_1	37	5	45	9	TCtaagtgcagaAGGT	8844
382_1	75	5	147	26	CTCaggagtctaciTC	8948
383_1	90	10	141	55	CTCaggagtctiaCTT	8949
384_1	73	8	234	116	AtggaggtgactcaggAG	8957
385_1	33	4	42	7	ATggaggtgactcagGA	8958
386_1	24	3	29	14	ATggaggtgactcAGG	8959
387_1	37	2	65	15	TATggaggtgactcAGG	8959
388_1	50	10	81	19	ATatggaggtgactcaGG	8959
389_1	42	5	61	10	TATGgaggtgactcAG	8960
390_1	36	2	76	50	ATatggaggtgacTCAG	8960
391_1	52	6	64	6	CATatggaggtgactcAG	8960
392_1	63	5	57	6	ATAtgaggtgactTCA	8961
393_1	53	7	64	12	CATatggaggtgactTCA	8961
394_1	51	5	56	24	CATatggaggtgACTC	8962

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
395_1	23	3	41	34	GCatattggagggtgacTC	8962
396_1	34	3	54	10	TGcatattggagggtgacTC	8962
397_1	54	5	71	24	TtgcattggagggtgacTC	8962
398_1	61	11	59	13	TttgcattggagggtgacTC	8962
399_1	25	2	30	6	GCatattggagggtgaCT	8963
400_1	34	4	25	9	TGcatattggagggtgaCT	8963
401_1	25	4	31	20	TTGcatattggagggtgaCT	8963
402_1	51	6	37	11	TttgcattggagggtgaCT	8963
403_1	26	1	33	5	TGcatattggagggtgAC	8964
404_1	25	2	69	19	TTGcatattggagggtGAC	8964
405_1	26	4	24	4	TTTGcatattggagggtgAC	8964
406_1	19	3	20	7	TTTGcatattggagggtGA	8965
407_1	16	5	46	16	TTtgcattggaGGTG	8966
408_1	9	2	9	6	AAgtgaagtcaaCAGC	8997
409_1	26	8	109	52	TGggaagtgaagTTCA	9002
410_1	31	5	24	5	ATggaagtgaagTTC	9003
411_1	49	9	19	10	GATGggaagtgaagGTT	9004
412_1	28	10	17	9	CTGtgatggaagtGAA	9007
413_1	54	4	34	8	ATTgagtgaatccAAA	9119
414_1	11	1	14	2	AAttgagtgaatCCAA	9120
415_1	58	6	14	2	GATAattgagtgaTCC	9122
416_1	5	1	16	3	GTGataattgagtGAA	9125
417_1	73	5	61	14	AAGaaagggtgcaaTAA	9155
418_1	86	6	64	13	CAagaaagggtgcAATA	9156
419_1	75	19	64	14	ACAAGaaagggtgcaAT	9157
420_1	75	8	50	13	ATttaaactcaciaAC	9171
421_1	21	8	23	6	CTgttaggttcaGCGA	9235
422_1	54	10	30	5	TCTGaatgaacatTTCG	9260
423_1	11	4	15	5	CTcattgaaggTCTG	9281
424_1	87	3	52	8	CTAatctcattgaaGG	9286
425_1	95	1	85	13	CCTaatctcattgaAG	9287
426_1	31	7	22	7	ACTttgatctttcAGC	9305
427_1	64	7	49	16	ACTatgcaacactTG	9315
428_1	18	6	21	3	CAAatagctttatCGG	9335
429_1	19	6	17	4	CCaaatagctttATCG	9336
430_1	35	4	27	8	TCCAaatagctttaTC	9337

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
431_1	75	8	43	7	GATCcaaatagcttTA	9339
432_1	67	11	32	8	ATgatccaaataGCTT	9341
433_1	53	5	43	6	TATGatccaaatagCT	9342
434_1	97	9	66	29	TAAAcagggctggGAAT	9408
435_1	58	12	44	17	ACTtaaacagggCTGG	9412
436_1	58	10	30	12	ACacttaaacagGGCT	9414
437_1	87	38	41	3	GAACacttaaacAGGG	9416
438_1	70	4	59	33	AGAGaaacacttaaACAG	9418
439_1	83	17	28	9	CTACagagaacaCTTA	9423
440_1	49	12	27	4	ATGctacagagaaCACT	9425
441_1	53	10	24	13	ATAAatgctacagagAACA	9427
442_1	23	6	20	10	AGataaatgctacaGAGA	9430
443_1	48	6	27	7	TAGAgataaatgcTACA	9434
444_1	51	3	32	8	TAGAtagagataaatGCT	9437
445_1	38	5	ND	ND	CAATatactagataGAGA	9445
446_1	52	3	31	1	TACAcfaatatactagATAG	9448
447_1	65	6	48	11	CTAcacaatatacTAG	9452
448_1	67	9	29	2	GCTAcacaatataCTA	9453
449_1	103	17	65	15	ATATgctacacaatATAC	9455
450_1	71	13	129	22	TGATatgctacaCAAT	9459
451_1	19	4	9	1	ATGAtatgatatgCTAC	9464
452_1	75	10	45	21	GAGGagagagacaaTAAA	9495
453_1	68	6	43	10	CTAggaggagagagACA	9500
454_1	72	7	79	25	TATTctaggaggagAGA	9504
455_1	31	3	29	9	TTATattctaggagGAG	9507
456_1	38	5	62	17	GTTtataattcGGAG	9510
457_1	15	6	15	8	TGgagttatattcTAGG	9512
458_1	34	3	21	3	CGtaccaccactcTGC	9590
459_1	41	5	55	22	TGAGgaaatcattcATTC	9641
460_1	81	8	47	22	TTTGaggaaatcatTCAT	9643
461_1	76	8	39	5	AGGcTaatcctattTG	9657
462_1	93	12	216	12	TTTAggctaaticCTAT	9660
463_1	15	6	30	9	TGCtccagtgaccCT	9755
464_1	27	3	25	6	TAGtagtactcgATAG	9813
465_1	9	2	7	3	CTAattgtagtagtaCTC	9818
466_1	52	3	32	6	TGctaattgtagTAGT	9822

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
467_1	68	11	36	16	AGTGctaattgtagTA	9824
468_1	35	6	32	3	GCAAgctgctaattgTA	9827
469_1	91	9	ND	ND	GAGGaaatgaactaattTA	9881
470_1	92	5	ND	ND	CAGGaggaatgaacTA	9886
471_1	67	5	42	6	CCctagagtcattTCC	9902
472_1	35	5	20	8	ATCttacatgatgaAGC	9925
473_1	13	1	20	5	GACacactcagatttcAG	9967
474_1	24	4	20	2	AGacacactcagatttcAG	9967
475_1	25	4	24	7	AAGacacactcagatttcAG	9967
476_1	26	6	19	4	AGacacactcagattTCA	9968
477_1	28	4	32	13	AAGacacactcagattTCA	9968
478_1	31	8	37	6	AAagacacactcagatTTCA	9968
479_1	63	7	51	26	GAAagacacactcagatTTC	9969
480_1	37	10	ND	ND	AAGAcacactcagatTTC	9969
481_1	41	4	ND	ND	AAAGacacactcagaTTTC	9969
482_1	19	5	48	14	TGAAagacacactcagatTT	9970
483_1	60	8	68	10	TGaaagacacactcaGATT	9971
484_1	42	8	63	22	TGAAagacacactcaGAT	9972
485_1	48	9	41	20	ATTGaaagacacacTCA	9975
486_1	27	6	27	12	TCattgaaagacaCACT	9977
487_1	88	13	121	33	TTcattcattgaAAGA	9983
488_1	80	12	ND	ND	ATAAtaccacttaTCAT	10010
489_1	13	4	27	15	TTacttaattcttTGGA	10055
490_1	32	5	60	24	TTAgaactagctttaTCA	10101
491_1	58	10	55	17	GAGgtacaaatataAGG	10171
492_1	4	1	12	3	CTTatgatacaacTTA	10384
493_1	37	6	35	5	TCttatgatacaacCTT	10385
494_1	30	0	27	6	TTcattatgatacaacCT	10386
495_1	27	8	18	3	CAGtttctatgaTAC	10390
496_1	25	10	25	6	GCAGtttctatgaTA	10391
497_1	77	6	72	29	TACAaatgtctattagGTT	10457
498_1	66	5	69	17	TGTAcfaatgtctatTAG	10460
499_1	27	10	20	4	AGCatacacaattagTA	10535
500_1	31	10	25	5	CTAatgatagtgaaGC	10548
501_1	21	7	30	8	AGCtaatgatagtgAA	10550
502_1	35	5	39	8	ATGCcttgacatatTA	10565

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
503_1	64	11	79	26	CTCAagattattgACAC	10623
504_2	25	4	83	32	ACctcaagattaTTGA	10626
504_1	94	7	22	6	ACCtcaagattaTTGA	10626
505_1	31	6	34	10	AACCtcaagattatTG	10627
506_1	55	6	62	17	CACAaacctcaagattaTT	10628
507_1	66	12	40	4	GTActtaattagACCT	10667
508_1	78	5	80	10	AGTActtaattagACC	10668
509_1	36	5	42	15	GTATgaggtggtaaAC	10688
510_1	40	4	48	22	AGGaaacagcagaAGTG	10723
511_1	27	7	13	6	GCacaaccagaggAA	10735
512_1	54	5	ND	ND	CAAgcacaaccagAG	10738
513_1	35	7	ND	ND	TTCaagcacaaccCAG	10740
514_1	49	6	52	15	AATcaagcacaACCC	10742
515_1	72	4	106	49	TAATaattcaagcacaCC	10743
516_1	43	4	57	21	ACTAataattcaaGCAC	10747
517_1	37	3	60	12	ATAAtactaataattCAAGC	10749
518_1	9	3	6	1	TAgattgtgagGTAA	11055
519_1	59	10	31	5	AGCCttaattctccAT	11091
520_1	41	4	34	9	AATGatctagagcCTTA	11100
521_1	34	6	34	7	CTAatgatctagaGCC	11103
522_1	52	6	52	17	ACTaatgatctaGAGC	11104
523_1	60	4	54	10	CATtaacatgttctTATT	11165
524_1	57	4	55	8	ACAAGtacattaacatGTTC	11170
525_1	53	6	44	5	TTACAagtacattaaCATG	11173
526_1	54	11	49	17	GCTTtattcatgtTTAT	11195
527_1	34	7	17	5	GCTtattcatgttTA	11196
528_1	11	2	21	4	AGAgcttattcatgtTT	11197
529_1	22	4	33	7	ATAAgagcttattCATG	11200
530_1	30	5	32	15	CATAagagctttaTTCA	11202
531_1	77	8	24	4	AGCAtaagagctTTAT	11205
532_1	8	3	15	6	TAGattgttagtGCA	11228
533_1	4	2	10	2	GTagattgttaGTGC	11229
534_1	41	6	33	11	GACAattctagtaGATT	11238
535_1	50	1	37	7	CTGacaattctaGTAG	11241
536_1	49	7	36	6	GCTGacaattctagTA	11242
537_1	59	2	42	11	AGgattaagatagTA	11262

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
538_1	28	11	28	4	CAGgattaagataCGT	11263
539_1	96	5	20	6	TCAGgattaagataCG	11264
540_1	70	11	59	11	TTcaggattaagATAC	11265
541_1	53	5	28	4	AGGAagaaagttgATTC	11308
542_1	92	13	59	12	TCAAggaagaaagtTTGA	11311
543_1	44	3	67	7	CTCAaggaagaaagTTTG	11312
544_1	43	4	32	4	TGCtcaaggaagaAAGT	11315
545_1	41	7	44	20	AATTatgctcaaggaAGA	11319
546_1	11	4	26	8	TAGGataaccacattatGA	11389
547_1	25	4	26	12	CAtaatttattccattcCTC	11449
548_1	64	6	ND	ND	TGCAtaatttattcCAT	11454
549_1	48	17	49	7	ACTGcataatttatTCC	11456
550_1	91	10	92	15	CTAAactgcataattTATT	11458
551_1	85	8	38	9	ATAactaaactgCATA	11465
552_1	86	4	ND	ND	TTAttaataactaaaCTGC	11468
553_1	91	13	92	21	TAGTactattattaataaCT	11475
554_1	50	4	37	7	CATAactaaggacgTT	11493
555_1	41	5	30	7	TCataactaaggaCGT	11494
556_1	80	7	55	13	CGTCataactaaggAC	11496
557_1	86	3	59	11	TCgctcataactaagGA	11497
558_1	51	9	33	12	ATcgctcataactAAGG	11498
559_1	91	6	65	26	GTagtatcttacATT	11525
560_1	30	3	41	8	CTCtattgtagtATC	11532
561_1	59	8	18	6	AGTatagagttacTGT	11567
562_1	65	11	41	11	TTCCtgggtgatactTT	11644
563_1	57	13	45	13	GTTCCtgggtgatactTT	11645
564_1	57	15	30	7	TGttcctgggtgataCT	11646
565_1	17	4	35	4	ATAaacatgaatctCTCC	11801
566_1	16	3	30	4	CTTataaacatgaaTCTC	11804
567_1	60	5	45	11	CTGtcittataaaCATG	11810
568_1	20	2	19	5	TTgttataaatctgTCTT	11820
569_1	68	9	44	4	TTAaatttattcttgGATA	11849
570_1	76	8	48	12	CTtaaatttattctTGGA	11851
571_1	62	5	66	5	CTTCtaaatttattctTG	11853
572_1	28	4	44	10	TATGtttctcagtAAAG	11877
573_1	29	6	36	11	GAAttatctttaaACCA	11947

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
574_1	74	6	34	7	CCCTtaaatttctaCA	11980
575_1	37	8	30	9	ACACtgctcttgaCC	11995
576_1	45	14	27	6	TGAcaacactgctCTT	12000
577_1	2	1	12	5	TACAttattgggcTC	12081
578_1	65	14	39	9	GTacattattgGGCT	12082
579_1	34	4	53	12	TTGgtacattatTGG	12085
580_1	41	7	35	6	CATGttggtacattTAT	12088
581_1	11	4	12	5	AATCagttggtacAT	12092
582_1	96	16	48	9	AAatcatgttggaCA	12093
583_1	71	15	42	13	GACaaglttggaAA	12132
584_1	46	34	39	6	AAgttcagatgCCTC	12197
585_1	37	26	28	12	GCTtaatgttcagaTG	12201
586_1	75	8	43	12	CGTAcatagcttgaTG	12267
587_1	41	10	28	5	GTGaggaattaggaTA	12753
588_1	41	5	27	9	GTAacaataggtTG	12780
589_1	67	10	37	7	GAaatattgtagaCTA	13151
590_1	97	10	80	12	TTGaaatattgtagAC	13153
591_1	64	10	47	9	AAgtctagtaatTTGC	13217
592_1	84	7	60	9	GCTCagtagattatAA	13259
593_1	42	8	32	9	CATacactgttgcTAA	13296
594_1	101	6	79	17	ATGgtctcaaatcATT	13314
595_1	53	14	46	7	CAATgggtctcaaatCA	13316
596_1	47	6	36	6	TTCCtattgattgaCT	13568
597_1	97	12	41	6	TTTCgttcacaacAC	13600
598_1	85	1	49	11	AGGaaaccactaaTCT	13702
599_1	56	3	34	7	TAAatggcaggaacCC	13710
600_1	15	4	24	8	GTAAatggcaggaacCC	13711
601_1	40	6	26	8	TTgtaaatggcagGAA	13713
602_1	59	12	26	6	TTatgagtaggCATG	13835
603_1	62	2	42	10	CCAggtgaaacttAA	13935
604_1	77	9	55	18	CCcttagtcagctCCT	13997
605_1	82	13	42	11	ACccttagtcagCTCC	13998
606_1	74	1	39	10	CACccttagtcagCTC	13999
607_1	76	9	30	8	TCTcttactaggcTCC	14091
608_1	82	5	50	13	CCtatctgtcatcATG	14178
609_1	82	1	48	12	TCCtatctgtcatcAT	14179

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
610_1	41	6	50	13	GAGaagtgtagaaGC	14808
611_1	70	5	84	19	CATCcttgaagttAG	14908
612_1	64	14	61	16	TAAaagatggctCCC	15046
613_1	85	2	51	14	CAAggcataataagAT	15053
614_1	47	1	35	10	CCaaggcataatAAGA	15054
615_1	74	8	53	11	TGatccaalttcaCC	15151
616_1	63	4	41	11	ATGatccaattctCAC	15152
617_1	46	7	42	9	CGCttcatcttcacCC	15260
618_1	104	4	15	4	TAtgacactgcaTCTT	15317
619_1	8	3	8	5	GTAtgacactgcaTCT	15318
620_1	21	3	27	10	TGtatgacactgCATC	15319
621_1	37	7	38	11	TTCTcttctgtaagTC	15363
622_1	49	7	36	11	TTctacagaggaACTA	15467
623_1	47	1	32	10	ACTacagttctacAGA	15474
624_1	78	8	69	6	TTCCcacaggtaaaTG	15561
625_1	70	7	ND	ND	ATTAttgaaataactCATT	15594
626_1	73	7	49	25	TGGGaggaaattatTTG	15606
627_1	80	5	64	11	TGACTcatcttaaaTG	15621
628_1	71	6	66	19	CTGactcatcttaaAT	15622
629_1	31	6	41	6	TTTactctgactcATC	15628
630_1	88	2	68	18	TATtggaggaattaTT	15642
631_1	53	2	27	6	GTAttggaggaattAT	15643
632_1	23	3	39	7	TGgtatacttcttaagTAT	15655
633_1	42	9	33	3	GATCtcttggataCT	15666
634_1	38	1	30	16	CAGacaactctataCC	15689
635_1	10	2	19	3	AACAtcagacaacTCTA	15693
636_1	13	1	11	3	TAACatcagacaacTC	15695
637_1	14	2	27	2	TTTAacatcagacaACTC	15695
638_1	101	14	81	16	ATttaacatcagacaAA	15698
639_1	14	1	17	1	CCtatttaacatcAGAC	15700
640_1	65	2	ND	ND	TCCctatttaacaTCA	15703
641_1	41	6	42	12	TCAAcgactattgGAAT	15737
642_1	37	2	29	5	CTTAtattctggcTAT	15850
643_1	31	7	35	4	ATCCttatattctgGC	15853
644_1	13	3	8	1	GATccttatattCTGG	15854
645_1	25	5	20	4	TGAtccttatattCTG	15855

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
646_1	33	6	54	10	ATTGaaacttgaTCCT	15864
647_1	43	3	27	6	ACTgtcattgaaACTT	15870
648_1	54	7	32	12	TCTtactgtcattgAA	15874
649_1	12	1	25	2	AGgatcttactgtCATT	15877
650_1	13	4	11	3	GCAaatcaactccATC	15896
651_1	10	5	16	3	GTGcaaatcaactCCA	15898
652_1	7	0	36	18	CAATtatttctttgTGC	15910
653_1	21	3	31	7	TGGcaacaattattTCTT	15915
654_1	75	9	73	24	GCTggcaacaatTATT	15919
655_1	21	6	39	6	ATCCatttctactgCC	15973
656_1	25	3	38	8	TAAAtatctattgattTCTA	15988
657_1	14	2	11	5	TCaataggttagggCA	16093
658_1	11	4	10	3	TTCaataggttaggGC	16094
659_1	18	1	32	12	AGGTtaattaattcaATAG	16102
660_1	33	7	25	10	CATttgtaatccCTAG	16163
660_2	64	14	31	8	CATttgtaatccCTAG	16163
661_1	48	6	34	6	ACAtttgtaatccCTA	16164
662_2	29	6	23	5	AAcatttgaatCCCT	16165
662_1	30	6	18	6	AACatttgaatCCCT	16165
663_1	49	1	26	6	TAaatttcaagttCTG	16184
664_1	17	3	30	10	GTTtaaatttcaagTTCT	16185
665_1	22	7	40	9	CCAAGtttaaattCAAG	16189
666_1	89	11	ND	ND	ACCCaagtttaaaTTTC	16192
667_1	60	16	87	8	CATacagtgaccaagTTT	16199
668_1	65	9	50	12	ACatcccatacagTGA	16208
669_1	83	8	103	4	AGcacagctctaCATC	16219
670_1	80	9	150	36	ATAtagcacagcTCTA	16223
671_1	57	14	ND	ND	TCCatatacagcCT	16226
672_1	53	10	106	8	ATTtccatatacagCACA	16229
673_1	78	3	96	14	TTTAttccatatacagCA	16231
674_1	77	9	31	7	TTTattccatatacagC	16232
675_1	32	6	ND	ND	AAGGagaggagatTATG	16409
676_1	32	5	24	6	AGTtcttgtgtagCT	16456
677_1	19	4	17	4	GAGtcttgtgtagGC	16457
678_1	14	3	25	3	ATTAattatccatCCAC	16590
679_1	11	2	20	6	ATCaalttaaltatcCATC	16593

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
680_1	31	5	40	11	AGAatcaaltaattaTCC	16596
681_1	8	3	30	10	TGagataccgtgcaTG	16656
682_1	11	3	ND	ND	AAtgagataccgTGCA	16658
683_1	15	3	33	10	CTGtggttaggctaAT	16834
684_1	45	7	38	7	AagagtaagggctgtggTT	16842
685_1	24	5	ND	ND	GATGgggtaagagTAA	16854
686_1	11	2	ND	ND	AGCagatgggtaaGA	16858
687_1	ND	ND	51	7	TGtaaacattgTAGC	16886
688_1	83	1	54	11	CCTgctataaatgTA	16898
689_1	103	4	73	14	TGCCctgctataaAT	16901
690_1	104	2	64	22	TCtcttagtcaaTA	16935
691_1	ND	ND	60	9	TGgttctaactACAT	16980
692_1	ND	ND	94	22	AGtttggttctaaCTA	16983
693_1	8	2	17	5	GAAtgaaactgcCTG	17047
694_1	98	6	51	9	ATTatccttacatGAT	17173
695_1	48	4	18	4	GTaccaattatcCTT	17180
696_1	94	2	48	9	TGTaccaattatCCT	17181
697_1	31	5	42	13	TTgtaccaaltaTCC	17182
698_1	41	4	39	6	TTTgtaccaaltaTC	17183
699_1	63	0	28	12	AGCagcaggtataTT	17197
700_1	99	6	43	12	TGGgaagtggctGGG	17292
701_1	103	2	28	5	CTGgagagtataTA	17322
702_1	52	6	27	9	AATGctggattacgTC	17354
703_1	67	3	37	7	CAatgctggattaCGT	17355
704_1	36	10	80	12	TTgttcagaagtATCC	17625
705_1	19	9	47	9	GATgatttgcttGGAG	17646
706_1	44	NA	60	9	GAAatcattcacaACC	17860
707_1	46	9	32	9	TTGtaacatctacTAC	17891
708_1	56	0	79	17	CATtaagcagcaagTT	17923
709_1	30	9	46	7	TTActagatgtgagCA	17942
710_1	29	4	36	6	TTtactagatgtgAGC	17943
711_1	41	13	41	6	GACcaagcacctaCA	17971
712_1	36	19	49	11	AGAccaagcacctTAC	17972
713_1	30	6	34	7	ATgggtaaataAAGG	18052
714_1	70	2	24	8	TCaaccagagtattAA	18067
715_1	11	4	26	8	GTCaaccagagtatTA	18068

CMP ID NO	Células KARPAS-299 CMP 5 µM		Células THP1 CMP 20 µM		Compuesto (CMP)	Inicio en SEQ ID NO 1
	% ARNm de control	DE	% ARNm de control	DE		
716_1	126	56	26	6	ATtgtaaagctgaTAT	18135
717_1	73	1	42	10	CACataattgtaAAGC	18141
718_1	23	9	55	18	GAggtctgctattTAC	18274
719_1	50	1	42	11	TGtagattcaatgCCT	18404
720_1	79	3	39	10	CCtcattatactaTGA	18456
721_1	27	6	30	8	CCttatgctatgacAC	18509
722_1	26	7	50	13	TCCTtatgctatgaCA	18510
723_1	59	1	48	12	AAGalgtttaagtATA	18598
724_1	54	2	50	13	CTgattattaagATGT	18607
725_1	92	10	84	19	TGgaaaggatgaaTT	18808
726_1	24	8	61	16	ACTgaaatggcttgGA	18880
727_1	8	4	51	14	AACTgaaatggctTGG	18881
728_1	35	4	35	10	CAATglttactatTT	19004
729_1	36	9	53	11	ACAatggttactATT	19005
730_1	70	2	41	11	CATCtgctatataaGA	19063
731_1	38	NA	42	9	CCTAgagcaaatcTT	19223
732_1	102	15	15	4	CAGagttaataatAAG	19327
733_1	37	10	8	5	GTTCaagcacaacgAA	19493
734_1	13	1	38	11	AGgggtcaagcacAAC	19496
735_1	49	NA	36	11	TGttggagacactgTT	19677
736_1	48	NA	32	10	AAGgaggagttaggAC	19821
737_1	36	NA	64	11	CTATgccatttacgAT	19884
738_1	105	19	66	19	TCaatgcagaattAG	19913
739_1	44	NA	41	6	AGtgacaatcaaATGC	19921
740_1	107	NA	68	18	AAGtgacaatcaaATG	19922
741_1	102	4	27	6	GTGtaccaagtaacAA	19978
742_1	110	10	30	16	TGGgatglttaaacTGA	20037

Ejemplo 2 - Prueba de la eficacia in vitro en una curva de respuesta a la dosis

5 Se sometió a prueba una selección de oligonucleótidos de la tabla 10 en células KARPAS-299 usando diluciones seriadas semilogarítmicas en PBS (50 µM, 15,8 µM, 5,0 µM, 1,58 µM, 0,5 µM, 0,158 µM, 0,05 µM, a 0,0158 µM de oligonucleótidos) en el ensayo de eficacia in vitro descrito en el ejemplo 1. Se evaluó la CI50 y la inhibición máxima (% de expresión de PD-L1 residual) para los oligonucleótidos.

10 Los cálculos de la CE50 se realizaron en GraphPad Prism6. La CI50 y el nivel máximo de atenuación de PD-L1 se muestran en la tabla 11 como % de células tratadas (PBS) de control.

Tabla 11: Inhibición máxima como % de solución salina y CE50 en la línea celular KARPAS-299.

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Inhibición máxima (% de expresión de PD-L1 residual; % de tratados con solución salina)		CE50 (µM)		Compuesto CMP	Inicio en SEQ ID NO: 1
	Prom.	DE	Prom.	DE		
6_1	11	3,3	0,69	0,11	TCGCataagaatgaCT	371
8_1	29	1,7	0,06	0,01	CTGaacacacagtCGC	383
9_1	19	1,7	0,23	0,02	TCTgaacacacagtCG	384
13_1	14	4,7	0,45	0,12	CTtacttagatgcTGC	495
41_1	10	1,8	0,19	0,02	TCAtttagttaccCAA	822
42_1	17	1,3	0,19	0,02	TTcatttagttaCCCA	823
58_1	23	1,5	0,17	0,01	CCagagatatataTGC	909
77_1	24	2,4	0,16	0,02	AGTatcatagttcTCC	1075
92_1	12	2,4	0,25	0,03	AGattaagacagtTGA	1310
111_1	3	2,0	0,27	0,03	TGaattcccatatcCGA	1992
128_1	11	1,8	0,25	0,03	CTcatatcagggCAGT	2063
151_1	16	2,7	0,28	0,05	GTCatggattacaaCT	2324
164_1	19	1,6	0,15	0,01	TCTGttatgtcacTG	2781
166_1	36	1,7	0,11	0,02	TGgtctgtttatGTCA	2784
169_1	10	1,6	0,22	0,02	TTcagcaaatatTCGT	2995
171_1	12	2,0	0,21	0,02	TCTattgttaggtATC	3053
222_1	1	2,0	0,21	0,02	TGacttgaattgTGG	5467
233_1	1	4,3	0,89	0,17	TGGaatgccctaataTA	5591
245_1	4	2,0	0,17	0,02	TCggttatgtaTCAT	6470
246_1	7	2,1	0,25	0,03	CActttatctggTCGG	6482
250_1	0	2,5	0,23	0,03	CCacatataggtcCTT	6597
251_1	0	2,8	0,75	0,10	CAtattgctaccaTAC	6617
252_1	3	2,2	0,19	0,02	TCAtattgctaccATA	6618
256_1	5	2,2	0,32	0,03	CAAtttagtcagcCAG	6672
272_1	1	3,2	0,69	0,10	TACTgtagaacatgGC	7133
273_1	3	2,8	0,28	0,04	GCAAttcatttgaTCT	7239
287_1	1	1,4	0,13	0,01	ACAAataatggtaCTCT	7302
292_1	2	2,1	0,21	0,02	GCATttgatatagAGA	7397
303_1	0	1,2	0,21	0,01	CAAgatgaatataTGCC	7551
314_1	3	2,1	0,39	0,04	GAgttggattagCTG	7764
318_1	3	1,4	0,14	0,01	ACAggatatggaaGGG	7880
320_1	2	2,4	0,22	0,03	GAgtaaltcaacAGG	7891
324_1	0	2,4	0,44	0,05	CAGcttactattaGGG	7906
336_1	0	2,5	0,21	0,03	GATGatthaattctagtCA	7984
342_1	1	2,2	0,12	0,01	CAGAttgatggttagTT	8030
343_1	4	1,8	0,11	0,01	CTcagattgatgGTAG	8032
344_1	0	0,9	0,12	0,01	GTTagccctcagaTTG	8039
345_1	0	2,3	0,36	0,04	TGtattgtagcCCTC	8045
346_1	1	2,1	0,22	0,02	ACTgtattgttAGCC	8048
349_1	4	2,9	0,21	0,03	ACAagtggtatctTCT	8228
359_1	6	2,9	0,39	0,05	TTGAtgaggctaagTC	8395
360_1	0	1,7	0,18	0,02	CCAggattatactTT	8439

ES 2 857 702 T3

CMP ID NO	Inhibición máxima (% de expresión de PD-L1 residual; % de tratados con solución salina)		CE50 (µM)		Compuesto CMP	Inicio en SEQ ID NO: 1
	Prom.	DE	Prom.	DE		
374_1	5	1,7	0,33	0,03	AAGatggattggaGT	8775
408_1	3	1,8	0,21	0,02	TTtgcataatggaGGTG	8966
409_1	0	1,8	0,21	0,02	AagtgaagttcaaCAGC	8997
415_1	0	1,4	0,23	0,02	AAttgagtgaatCCAA	9120
417_1	7	0,9	0,15	0,01	GTGataattgagtGAA	9125
424_1	6	3,2	0,19	0,03	CTcattgaaggtTCTG	9281
429_1	5	2,5	0,48	0,05	CAAatagctttatCGG	9335
430_1	1	2,7	0,68	0,09	CCaaatagctttATCG	9336
458_1	0	4,1	0,35	0,07	TGgagtttatattTAGG	9512
464_1	0	4,1	0,56	0,10	TGCtccaggtaccCT	9755
466_1	1	2,1	0,21	0,02	CTAattgtagtagiaCTC	9818
474_1	0	2,4	0,27	0,03	GACacactcagattcAG	9967
490_1	0	1,9	0,29	0,03	TTacttaatttctTGGA	10055
493_1	3	1,8	0,20	0,02	CTTatgatacaacTTA	10384
512_1	0	3,3	0,63	0,10	GCacaaccagaggAA	10735
519_1	5	1,5	0,15	0,01	TAgatttgtagGTA	11055
529_1	0	2,7	0,24	0,03	AGAgctttattcatgtTT	11197
533_1	6	1,5	0,14	0,01	TAGattgttagtGCA	11228
534_1	5	0,9	0,06	0,00	GTagattgttaGTGC	11229
547_1	1	1,6	0,26	0,02	TAGGataccacattatGA	11389
566_1	0	3,0	0,40	0,06	ATAaacatgaatctCTCC	11801
567_1	2	2,5	0,34	0,04	CTTataaacatgaaTCTC	11804
578_1	2	1,3	0,09	0,01	TACAttattgggcTC	12081
582_1	1	1,6	0,20	0,02	AATCatgttggtacAT	12092
601_1	1	2,1	0,47	0,05	GTAaalggcaggaaCC	13711
619_1	4	3,4	0,44	0,08	TAtgacactgcaTCTT	15317
620_1	1	1,2	0,12	0,01	GTAAtgacactgcaTCT	15318
636_1	0	1,3	0,19	0,01	AACAtcagacaacTCTA	15693
638_1	0	2,2	0,36	0,04	TAACatcagacaacTC	15695
637_1	0	2,1	0,21	0,02	TTTAacatcagacaACTC	15695
640_1	2	3,3	0,42	0,06	CCtatttaacatcAGAC	15700
645_1	1	2,9	0,34	0,04	GAtccttatattCTGG	15854
650_1	0	2,4	0,24	0,03	AGgatcttactgtCATT	15877
651_1	4	3,4	0,33	0,05	GCAaatcaactccATC	15896
652_1	0	1,3	0,16	0,01	GTGcaaatcaactCCA	15898
653_1	4	2,0	0,09	0,01	CAATtatttctttgTGC	15910
658_1	3	1,6	0,32	0,02	TCaataggttagggCA	16093
659_1	5	1,4	0,20	0,01	TTCaataggttagggGC	16094
660_1	4	2,1	0,22	0,02	AGGTtaattaattcaATAG	16102
665_1	3	1,8	0,18	0,02	GTTtaaattcaagTTCT	16185
678_1	3	2,1	0,43	0,04	GAgttctgtgtaGC	16457
679_1	0	3,5	0,31	0,05	ATTaattatccatCCAC	16590
680_1	4	1,6	0,12	0,01	ATCaattaattatcCATC	16593

CMP ID NO	Inhibición máxima (% de expresión de PD-L1 residual; % de tratados con solución salina)		CE50 (µM)		Compuesto CMP	Inicio en SEQ ID NO: 1
	Prom.	DE	Prom.	DE		
682_1	3	2,4	0,27	0,03	TGagataccgtgcaTG	16656
683_1	0	3,2	0,16	0,03	AAtgagataccgTGCA	16658
684_1	2	2,3	0,25	0,03	CTGtggttaggctaAT	16834
687_1	5	1,3	0,13	0,01	AGCagatgggtaaGA	16858
694_1	0	1,7	0,16	0,02	GAAtgaaactgcCTG	17047
706_1	15	3,6	0,27	0,06	GAtgatttgcttGGAG	17646
716_1	10	2,1	0,15	0,02	GTCaaccagagatTA	18068
728_1	5	1,2	0,09	0,01	AACttgaatggctTGG	18881
733_1	0	12,7	8,01	3,62	CAGagtaataatAAG	19327
734_1	0	14,6	3,49	2,39	GTTCaagcacaacgAA	19493
735_1	0	2,5	0,30	0,04	AGggtcaagcacAAC	19496

Se sometió a prueba una selección de oligonucleótidos de la tabla 6 en células THP-1 usando una dilución seriada 1:3 en agua de 25 µM a 0,004 µM en el ensayo de eficacia in vitro descrito en el ejemplo 1. Se evaluó la CI50 y la inhibición máxima (porcentaje de expresión de PD-L1 residual) para los oligonucleótidos.

5 Los cálculos de la CE50 se realizaron en GraphPad Prism6. La CI50 y el nivel máximo de atenuación de PD-L1 se muestran en la tabla 12 como % de células tratadas (PBS) de control.

10 Tabla 12: Inhibición máxima como % de solución salina y CE50 en la línea celular THP1.

CMP ID NO	Inhibición máxima (% de expresión de PD-L1 residual; % de solución salina)		CE50 (µM)		Compuesto CMP	Inicio en SEQ ID NO: 1
	Prom.	DE	Prom.	DE		
6_1	12	11,5	0,73	0,38	TCGCataagaatgaCT	371
8_1	6	5,6	0,11	0,04	CTGaacacacagTCGC	383
9_1	1	14,3	0,36	0,27	TCTgaacacacagTCG	384
13_1	2	12,4	0,49	0,31	CTtacttagatgcTGC	495
41_1	14	14,6	0,38	0,27	TCAtttagttaccCAA	822
42_1	21	10,4	0,22	0,10	TTcatttagttaCCCA	823
58_1	6	19,8	0,97	0,81	CCagagatatataTGC	909
77_1	5	4,8	0,14	0,04	AGTatcatagttcTCC	1075
92_1	0	12,9	0,57	0,39	AGattaagacagTGA	1310
128_1	15	10,1	0,23	0,13	CTcatatcagggCAGT	2063
151_1	9	14,4	0,18	0,15	GTCatggattacaaCT	2324
164_1	16	22,0	0,57	0,60	TCTGtttatgtcacTG	2781
166_1	13	11,9	0,17	0,11	TGgtctgtttatGTCA	2784
169_1	0	9,3	0,22	0,11	TTcagcaaatatTCGT	2995
171_1	11	12,9	0,28	0,20	TCTattgtaggtATC	3053
222_1	16	19,7	0,68	0,64	TGacttgtaattgTGG	5467
245_1	14	6,1	0,26	0,08	TCggttatgtaTCAT	6470
246_1	28	7,3	0,10	0,20	CActttatctggTCGG	6482
252_1	19	8,0	0,29	0,12	TCAattgctaccATA	6618
272_1	3	9,7	0,25	0,14	TACTgtagaacatgGC	7133
314_1	13	9,6	0,31	0,15	GAgttggattagCTG	7764

CMP ID NO	Inhibición máxima (% de expresión de PD-L1 residual; % de solución salina)		CE50 (µM)		Compuesto CMP	Inicio en SEQ ID NO: 1
	Prom.	DE	Prom.	DE		
344_1	11	8,0	0,14	0,06	GTTAgccctcagaTTG	8039
349_1	12	12,5	0,18	0,14	ACAagtggtatctTCT	8228
415_1	11	9,6	0,26	0,12	AAttgagtgaatCCAA	9120
493_1	15	16,5	0,48	0,34	CTTatgatacaacTTA	10384
512_1	43	14,1	0,31	0,68	GCacaacccagaggAA	10735
519_1	9	12,2	0,45	0,26	TAgatttgtagGTAA	11055
533_1	11	13,6	0,29	0,21	TAGattgttagTGA	11228
534_1	9	6,5	0,09	0,03	GTagattgttaGTGC	11229
582_1	0	12,3	0,33	0,23	AATCAtgtgtgtacAT	12092
619_1	8	10,4	0,32	0,18	TAtgacactgcaTCTT	15317
620_1	12	24,6	1,10	1,08	GTAAtgacactgcaTCT	15318
638_1	2	5,4	0,00	0,00	TAAcAtcagacaacTC	15695
645_1	20	29,6	1,10	1,50	GAtccttatattCTGG	15854
651_1	0	11,2	0,14	0,09	GCAaatcaactccATC	15896
658_1	11	13,8	0,48	0,32	TCaatagtgtagggCA	16093
659_1	0	8,2	0,11	0,06	TTCaatagtgtaggGC	16094
733_1	0	69,6	11,03	26,95	CAGagtaataatAAG	19327
734_1	36	16,8	2,84	2,12	GTTCaagcacaacgAA	19493

Los resultados de la tabla 7 y 8 también se muestran en la figura 2 en relación con su posición cuando se dirigen al preARNm de PD-L1 de SEQ ID NO: 1.

- 5 A partir de esto, se puede observar que casi todos los compuestos tienen valores de CE50 por debajo de 1 µM y una atenuación del objetivo por debajo de un 25 % del nivel de expresión de PD-L1 en las células de control (tratadas con solución salina).

10 **Ejemplo 3 - Potencia y eficacia *in vitro* y reducción de PD-L1 *in vivo* en ratones inducidos con poli(I:C) usando oligonucleótidos antisentido de PD-L1 no conjugados y conjugados con GalNAc**

15 La prueba de eficacia y potencia se realizó en un experimento *in vitro* en estudios de respuesta a la dosis en células MCP-11 usando los oligonucleótidos de la tabla 6. Los mismos oligonucleótidos, así como las versiones conjugadas con GalNAc (tabla 8 CMP ID NO755_2-765_2) se sometieron a prueba *in vivo* en ratones hembra C57BL/6J inducidos con poli(I:C) para determinar su capacidad para reducir el ARNm de PD-L1 y la expresión de la proteína.

Ensayo *in vitro*

20 Se añadieron células MCP-11 (adquiridas originalmente de ATCC) suspendidas en DMEM (n.º de cat. de Sigma D0819) complementado con suero de caballo al 10 %, L-glutamina 2 mM, 0,025 mg/ml de gentamicina y piruvato de sodio 1 mM a una densidad de 8000 células/pocillo a los oligonucleótidos (10 µl) en placas de fondo redondo de 96 pocillos y se cultivaron durante 3 días en un volumen final de 200 µl/pocillo en una incubadora humidificada a 37 °C con un 5 % de CO₂. Se seleccionaron oligonucleótidos en concentraciones dentro de un intervalo de dosis (50 µM, 15,8 µM, 5,0 µM, 1,58 µM, 0,5 µM, 0,158 µM, 0,05 µM y 0,0158 µM).

25 Se extrajo el ARNm total usando el kit PureLink Pro 96 RNA Purification (Ambion), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se sintetizó el ADNc usando retrotranscriptasa M-MLT, decámeros aleatorios RETROscript, inhibidor de RNasa (Ambion) y un conjunto de dNTP 100 mM (Invitrogen, grado para PCR) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para el análisis de expresiones génicas, se realizó una qPCR usando TaqMan Fast Advanced Master Mix (2X)(Ambion) en una configuración en dúplex con ensayos con cebadores TaqMan para el PD-L1 (Thermo Fisher Scientific; FAM-MGB Mm00452054-m1) y GusB (Thermo Fisher Scientific; VIC-MGB-PL Mm01197698-m1). El nivel relativo de expresión de ARNm de PD-L1 se muestra en la tabla 9 como % de expresión de PD-L1 residual en % de muestras de control con PBS (células tratadas con PBS). Los cálculos de la CE50 se realizaron en GraphPad Prism6. La CE50 y el nivel máximo de atenuación de PD-L1 se muestran en la tabla 13 como % de células de control (PBS).

35

Ensayo *in vivo*

Se inyectaron por vía s.c. a ratones hembra C57BL/6J (20-23 g; 5 ratones por grupo) 5 mg/kg de oligonucleótidos no conjugados a PD-L1 de ratón o 2,8 mg/kg de oligonucleótidos conjugados con GalNAc a PD-L1 de ratón. Tres días más tarde, se inyectó a los ratones por vía i.v. 10 mg/kg de poli(I:C) (LWM, Invivogen). Se sacrificaron los ratones 5 h después de la inyección de poli(I:C) y se colocaron las muestras de hígado en RNAlater (Thermo Fisher Scientific) para la extracción de ARN o se congelaron en nieve carbónica para la extracción de la proteína.

Se extrajo el ARNm total de muestras de hígado homogeneizadas usando el kit PureLink Pro 96 RNA Purification (Ambion), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se sintetizó el ADNc usando retrotranscriptasa M-MLT, decámeros aleatorios RETROscript, inhibidor de RNasa (Ambion) y un conjunto de dNTP 100 mM (Invitrogen, grado para PCR) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para el análisis de expresiones génicas, se realizó una qPCR usando TaqMan® Fast Advanced Master Mix TaqMan Fast Advanced Master Mix (2X)(Ambion) en una configuración en dúplex con ensayos con cebadores TaqMan para el PD-L1 (Thermo Fisher Scientific; FAM-MGB Mm00452054-m1) y TBP (Thermo Fisher Scientific; VIC-MGB-PL Mm00446971_m1). El nivel relativo de expresión de ARNm de PD-L1 se muestra en la tabla 13 como % de muestras de control de ratones a los que se inyectó solución salina y poli (I:C).

Se prepararon homogeneizados de hígado homogeneizando muestras de hígado en 2 ml por 100 mg de T-PER® Tissue Protein Extraction Reagent para tejido (Thermo Fisher Scientific) mezclado con 1x Halt Protease Inhibitor Cocktail, sin EDTA (Thermo Fisher Scientific). Se midieron las concentraciones de proteína en los homogeneizados de hígado usando el reactivo de ensayo Coomassie Plus (Bradford) (Thermo Scientific) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se separaron los homogeneizados de hígado (40 µg de proteína) en geles de poliacrilamida Bis-Tris Plus al 4-12 % (Thermo Fisher Scientific) en tampón de migración MOPS 1xy se transfirieron a membranas de nitrocelulosa usando el sistema de transferencia iBLOT Dry (Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se cortó cada mancha en dos partes horizontalmente en la banda de 64 kDa. Después del bloqueo en TBS que contenía leche desnatada al 5 % y Tween 20 al 0,05 %, se incubaron las membranas durante la noche a 4 °C con anticuerpo monoclonal de conejo anti-vinculina (n.º de cat. de Abcam ab129002) diluido 1:10000 (membranas superiores) o anticuerpo policlonal de cabra anti-mPD-L1 (n.º de cat. de R&D Systems AF1019) diluido 1:1000 (membranas inferiores) en TBS que contenía leche desnatada al 5 % y Tween 20 al 0,05 %. Se lavaron las membranas en TBS que contenía Tween 20 al 0,05 % y se expusieron durante 1 h a temperatura ambiente a anticuerpo de cerdo anti-IgG de conejo conjugado con HRP (DAKO) diluido 1:3000 (membranas superiores) o anticuerpo de conejo anti-IgG de cabra conjugado con HRP (DAKO) diluido 1:2000 en TBS que contenía leche desnatada al 5 % y Tween 20 al 0,05 %. Después del lavado de las membranas, se detectó la reactividad usando ECL select (Amersham GE Healthcare). Para cada grupo de ratones tratados con oligonucleótidos, se evaluó la intensidad de las bandas de PD-L1 en relación con las bandas de vinculina por comparación con las intensidades de las bandas de PD-L1/vinculina de los ratones a los que se inyectó solución salina y poli(I:C)(control). Los resultados se muestran en la tabla 13, y las transferencias de Western con pares de oligonucleótidos no conjugados y conjugados se muestran en la figura 9 AE.

Tabla 13: Eficacia *in vitro* e *in vivo* de oligonucleótidos en PD-L1 de ratón

CMP ID NO	Compuesto CMP	Inhibición máxima (% de PBS)	CE50 (µM)	ARNm de PD-L1 (% de control)	Proteína PD-L1 (respecto al control)
744_1	AGTttacatttcTGC	9,1	0,56	86	++
746_1	CACctttaaaccCCA	5,0	0,46	181	nd
747_1	TCCtttataatcaCAC	4,4	0,52	104	++
748_1	ACGgtattttcacAGG	1,8	0,26	102	+++
749_1	GACactacaatgaGGA	7,6	1,21	104	nd
750_1	TGGtttttaggacTGT	12,4	0,74	84	nd
751_1	CGAcaaattctatCCT	9,9	0,69	112	nd
752_1	TGAtatacaatgcTAC	10,5	1,11	142	+++
753_1	TCGttgggtaaaiTTA	5,7	0,53	116	+++
754_1	TGCtttataaatgGTG	5,2	0,35	98	nd
755_2	5'-GN2-C6-caAGTttacatttcTGC	nd	nd	58	+
757_2	5'-GN2-C6-caCACctttaaaccCCA	nd	nd	62	nd
758_2	5'-GN2-C6-caTCCtttataatcaCAC	nd	nd	53	+
759_2	5'-GN2-C6-caACGgtattttcacAGG	nd	nd	66	+

CMP ID NO	Compuesto CMP	Inhibición máxima (% de PBS)	CE50 (µM)	ARNm de PD-L1 (% de control)	Proteína PD-L1 (respecto al control)
760_2	5'-GN2-C6-caGACactacaatgaGGA	nd	nd	101	nd
761_2	5'-GN2-C6-caTGGtttttaggacTGT	nd	nd	99	nd
762_2	5'-GN2-C6-caCGAcaaattctatCCT	nd	nd	84	nd
763_2	5'-GN2-C6-caTGAtatacaatgcTAC	nd	nd	93	+++
764_2	5'-GN2-C6-caTCGttgggtaaatTTA	nd	nd	53	+
765_2	5'-GN2-C6-caTGCtttataaatgGTG	nd	nd	106	nd

+++ : similar a la intensidad de control de las bandas de PD-L1/vinculina; ++ : más débil que la intensidad de control de la banda de vinculina/PD-L1; + : mucho más débil que la intensidad de control de la banda de vinculina/PD-L1; nd = no determinado.

5 A partir de los datos de la tabla 13 se puede observar que la conjugación de los oligonucleótidos con GalNAc mejora claramente la reducción de PD-L1 *in vivo*. La reducción de ARNm se correlaciona, en general, con una reducción de la proteína PD-L1. Excepto para CMP ID NO: 754_1, un valor de CE50 *in vitro* bajo refleja, en general, una buena reducción del ARNm de PD-L1 *in vivo* una vez que el oligonucleótido se conjuga con GalNAc.

10 Ejemplo 4 - FC/FD *in vivo* en hepatocitos clasificados y células no parenquimatosas de ratones inducidos con poli(I:C)

15 Se investigó la distribución de oligonucleótidos conjugados y conjugados con GalNAc, así como la reducción del ARNm de PD-L1 en hepatocitos y células no parenquimatosas aislados de ratones inducidos con poli (I:C).

20 Se inyectaron por vía s.c. a ratones hembra C57BL/6J (n=3 por grupo) 5 mg/kg de oligonucleótido no conjugado (748_1) o 7 mg/kg de oligonucleótidos conjugados con GalNAc (759_2) dirigidos al ARNm de PD-L1 de ratón. Dos días más tarde, se inyectó a los ratones por vía i.p. 15 mg/kg de poli(I:C) (LWM, Invivogen). Se anestesió a los ratones 18-20 h después de la inyección de poli(I:C) y se perfundió el hígado a un caudal de 7 ml por minuto a través de la vena cava usando una solución salina equilibrada de Hank que contenía Hepes 15 mM y EGTA 0,38 mM durante 5 min seguido de solución de colagenasa (solución salina equilibrada de Hank que contiene 0,17 mg/ml de colagenasa de tipo 2 (Worthington 4176), BSA al 0,03 %, CaCl₂ 3,2 mM y 1,6 g/l de NaHCO₃) durante 12 min. Después de la perfusión, se extrajo el hígado y se abrió la cápsula hepática, se filtró la suspensión de hígado a través de un filtro de células de 70 µm usando medio de William E y se extrajo una alícuota de la suspensión de células (= células hepáticas mixtas) para su análisis posterior. Se centrifugó el resto de la suspensión celular durante 3 min a 50xg. Se recogió el sobrenadante para la purificación posterior de las células no parenquimatosas. Se resuspendió el sedimento en 25 ml de medio de William E (n.º de cat. de Sigma W1878 complementado con 1x Pen/Strep, L-glutamina 2 mM y FBS al 10 % (ATCC n.º 30-2030)), se mezcló con 25 ml de medio de William E que contenía Percoll al 90 % y se precipitaron los hepatocitos por centrifugación a 50xg durante 10 min. Después de lavado 2x en medio de William E, se resuspendieron los hepatocitos precipitados en medio de Williams E. Se centrifugó el sobrenadante que contenía células no parenquimatosas a 500xg durante 7 min y se resuspendieron las células en 4 ml de medio RPMI y se centrifugaron a través de dos capas de percoll (percoll al 25 % y 50 %) a 1800xg durante 30 min. Tras la recogida de las células no parenquimatosas entre las dos capas de percoll, se lavaron las células y se resuspendieron en medio RPMI.

35 Se extrajo el ARNm total de los hepatocitos purificados, células no parenquimatosas y suspensión hepática total (células hepáticas no fraccionadas) usando el kit PureLink Pro 96 RNA Purification (Ambion), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se sintetizó el ADNc usando retrotranscriptasa M-MLT, decámeros aleatorios RETROscript, inhibidor de RNasa (Ambion) y un conjunto de dNTP 100 mM (Invitrogen, grado para PCR) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para el análisis de expresiones génicas, se realizó una qPCR usando TaqMan Fast Advanced Master Mix (2X)(Ambion) en una configuración en dúplex con ensayos con cebadores TaqMan para el PD-L1 (Thermo Fisher Scientific; FAM-MGB Mm00452054-m1) y TBP (Thermo Fisher Scientific; VIC-MGB-PL Mm00446971_m1). El nivel relativo de expresión de ARNm de PD-L1 se muestra en la tabla 10 como % de muestras de control de ratones a los que se inyectó solución salina y poli (I:C).

50 Se realizó el análisis del contenido de oligonucleótidos usando ELISA que empleó una sonda de captura biotinilada con la secuencia 5'-TACCGT-s-Bio-3' y una sonda de detección conjugada con digoxigenina con la secuencia 5'-DIG-C12-S1-CCTGTG-3'. Las sondas consistieron únicamente en LNA con una cadena principal de fosfodiéster. Se homogeneizaron muestras de hígado (aproximadamente 50 mg) en 1,4 ml de tampón de lisis MagNa pure (n.º de cat. de Roche 03604721001) en un tubo Eppendorf de 2 ml que contenía una microesfera de acero inoxidable de 5 mm. Se homogeneizaron las muestras en un homogeneizador Retsch MM400 (Merck Eurolab) hasta que se obtuvo un lisado uniforme. Se incubaron las muestras durante 30 min a temperatura ambiente. Se generaron estándares

añadiendo el compuesto de oligonucleótido antisentido no conjugado (CMP ID NO 748_1) en concentraciones definidas en una muestra de hígado no tratada y procesándolas como muestras. Se eligen concentraciones enriquecidas para que coincidan con el contenido previsto de oligonucleótidos de la muestra (dentro de ~ 10 veces).

- 5 Se diluyeron las muestras homogeneizadas un mínimo de 10 veces en 5 x tampón SSCT (NaCl 750 mM y citrato de sodio 75 mM, que contenía Tween-20 al 0,05 % (v/v), pH7,0) y una serie de diluciones de 6 veces. Se hicieron diluciones 2 veces usando una solución de captura-detección (sonda de captura 35 nM y sonda de detección 35 nM en tampón SSCT 5x) y se incubaron durante 30 min a temperatura ambiente. Se transfirieron las muestras a una placa recubierta con estreptavidina de 96 pocillos (n.º de cat. de Nunc 436014) con 100 µl en cada pocillo. Se incubaron las placas durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación suave. Lavar tres veces con tampón SSCT 2 x y se añadió 100 µl de fragmento Fab anti-DIG-AP (Roche Applied Science, n.º de cat. 11 093 274 910) diluido 1:4000 en PBST (solución salina tamponada con fosfato, que contiene Tween-20 al 0,05 % (v/v), pH 7,2, recién preparada) a cada pocillo y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación suave. Lavar tres veces con tampón SSCT 2 x y añadir 100 µl de solución de sustrato de fosfatasa alcalina (AP) (sustrato Blue Phos, código de producto KPL50-88-00, recién preparado). Se midió la intensidad del color espectrofotométricamente a 615 nm después de 30 minutos de incubación con agitación suave. Se exportaron los datos brutos de los lectores (programa informático Gen5 2.0) al formato de Excel y se analizaron adicionalmente en Excel. Se generaron curvas de calibración usando el programa informático GraphPad Prism 6 y un modelo de regresión logística 4PL.
- 10
- 15
- 20 **Tabla 14: Expresión de PD-L1 y contenido de oligonucleótidos en suspensión total de hígado, hepatocitos y células no parenquimatosas de ratones con poli (I:C) tratados con oligonucleótidos no conjugados y conjugados con GalNAc, n=3.**

Tipos celulares	CMP ID no	Expresión de PD-L1 (% de solución salina- poli(I:C))		contenido de oligonucleótidos (ng/10 ⁵ células)	
		Prom.	DE	Prom.	DE
Hígado total	748_1	31	12,4	2,3	0,3
	759_2	28	5,3	8,3	1,1
Hepatocitos	748_1	33	8,0	5,1	3,7
	759_2	7	1,0	43,8	18,9
Células no parenquimatosas	748_1	31	10,1	2,2	0,7
	759_2	66	1,6	1,7	0,9

- 25 Los resultados muestran que el oligonucleótido no conjugado (CMP ID NO: 748_1) y el conjugado (CMP ID NO: 759_2) reducen el ARNm de PD-L1 igualmente bien en las células hepáticas totales. En hepatocitos aislados, el efecto del oligonucleótido conjugado es casi 5 veces más fuerte que el efecto del oligonucleótido no conjugado, mientras que los oligonucleótidos no conjugados mostraron un efecto dos veces más fuerte que los oligonucleótidos conjugados con GalNAc en células no parenquimatosas. En hepatocitos y células no parenquimatosas, la reducción de la expresión de ARNm de PD-L1 se correlaciona en cierta medida con el contenido de oligonucleótidos en estos tipos de células.
- 30

Ejemplo 5 - Atenuación de PD-L1 in vivo en ratones VAA/VHB usando oligonucleótidos antisentido de PD-L1 no conjugados y conjugados con GalNAc

- 35 En el presente estudio, se trataron ratones VAA/VHB con oligonucleótidos antisentido de PD-L1 no conjugados o conjugados con GalNAc, y se evaluó la expresión de ARNm de PD-L1 y la expresión génica del VHB en el hígado.

Se pretrataron ratones hembra HLA-A2/DR1 de 5-8 semanas de edad (5 animales por grupo) en la semana -1 con vehículo (solución salina), oligonucleótidos antisentido de PD-L1 no conjugados (CMP ID NO752_1 a 5 mg/kg s.c.) y oligonucleótidos antisentido de PD-L1 conjugados con GalNAc (CMP ID NO763_2 a 7 mg/kg s.c.), estas dosis corresponden a concentraciones equimolares de los oligonucleótidos. Se transdujo a los ratones 5 x 10¹⁰ gv de VAA-VHB en la semana 0 (para otros detalles véase la descripción del modelo de ratón de VAA/VHB en la sección Materiales y procedimientos). Desde la S1 después de la transducción de VAA-VHB a la S4, los ratones recibieron 4 inyecciones s.c. adicionales de oligonucleótidos de PD-L1 o vehículo (solución salina), administradas con una semana de diferencia.

40

45

Se tomaron muestras de sangre una semana antes de la transducción y una semana después de cada inyección.

- Se sacrificó a los ratones dos semanas después de las últimas inyecciones y se extrajo el hígado después de la perfusión de PBS. Se cortó el hígado en trozos más pequeños y se congeló directamente.
- 50

Para medir la expresión génica del VHB, se extrajo ADN del suero con Qiagen Biorobot usando el kit QIAamp One para todos los ácidos nucleicos, n.º de cat. 965672, se diluyó el suero en una dilución 1:20 en PBS y se lisó un total

de 100 µl en 200 µl de tampón AL. Se eluyó del kit el ADN en 100 µl.

Para la qPCR ultrarrápida, se usó TaqMan Gene Expression Master Mix (n.º de cat. 4369016, Applied Biosystems) conjuntamente con una mezcla de cebadores preparada añadiendo 1:1:0,5 de los siguientes cebadores F3_core, R3_core, P3_core (Integrated DNA Technologies, todos reconstituidos a 100 µM cada uno)

Directo (F3_core): CTG TGC CTT GGG TGG CTT T (SEQ ID NO: 784)

Inverso (R3_core): AAG GAA AGA AGT CAG AAG GCA AAA (SEQ ID NO: 785)

Sonda (P3_core): 56-FAM-AGC TCC AAA/ZEN/TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G-3IABkFQ (SEQ ID NO: 786)

Se preparó una curva de calibración usando un plásmido del VHB (genotipo D, GTD) usando diluciones 1:10 comenzando con 1 x10⁹ copias/l y bajando hasta 1 copia/l y se usó en 5 µl por reacción.

Para cada reacción, se añadieron 10 µl de Gene Expression Master Mix, 4,5 µl de agua, 0,5 µl de mezcla de cebadores y 5 µl de muestra o estándar y se ejecutó la qPCR.

Para el análisis, se calculó el número de copias/ml/pocillo usando la curva de calibración. Los resultados se muestran en la tabla 15.

Se midió la expresión de ARNm de PD-L1 usando la qPCR.

Se extrajo ARNm de trozos de hígado congelados que se añadieron a tubos de 2 ml que contenían microesferas de cerámica (tubos Lysing Matrix D, 116913500, mpbio) y 1 ml de Trizol.

Se homogeneizó la parte de hígado usando el Precellys Tissue Disruptor. Se añadió 200 µl de cloroformo al homogeneizado, se agitó en vórtex y se centrifugó a 4 °C durante 20 min a 10000 rpm. Se transfirió el ARN que contenía la fase transparente (alrededor de 500 ul) a un tubo nuevo y se añadió el mismo volumen de EtOH al 70 %. Después de mezclar bien, se transfirió la solución a una columna de centrifugación RNeasy y se extrajo el ARN de nuevo siguiendo el manual del kit RNeasy Mini Kit, n.º de cat. 74104, Qiagen (incluyendo el RNase-free DNase Set para digestión de ARN, n.º de cat. 79254). Elución en 50 µl de H₂O. Se midió la concentración final de ARN y se ajustó a 100 ng/ul para todas las muestras.

Se realizó la qPCR en 7,5 µl de ARN usando el kit Taqman RNA-to-ct 1-step Kit, n.º de cat. 4392938, Thermo Fisher de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El cebador directo mezclado usado contenía PD-L1-3 (número de cebador Mm00452054_m1, Mm03048247_m1 y Mm03048248_m1) y controles endógenos (ATCB Mm00607939_s1, CANX Mm00500330_m1, YWHAZ Mm03950126B_s1 y GUSB Mm01197698_m1)

Los datos se analizaron mediante el procedimiento 2^{-ddct}. Se usó la media de los cuatro controles endógenos para calcular los valores de d_{ct}. La expresión de PD-L1 con respecto a la media de los controles endógenos y en % de solución salina

Tabla 15: Expresión de ARNm de PD-L1 y ADN del VHB en ratones VAA/VHB tratados con oligonucleótidos no conjugados y conjugados con GalNAc, n=5.

	CMP ID no	Expresión de ARNm de PD-L1 (% de solución salina)		Expresión de ADN del VHB (% de solución salina)	
		Prom.	DE	Prom.	DE
No conjugado	752_1	55	35	72	16
Conjugado con GalNAc	763_2	34	3	79	9

A partir de estos resultados, se puede observar que los oligonucleótidos tanto no conjugados como conjugados con GalNAc son capaces de reducir la expresión de ARNm de PD-L1 en el hígado de un ratón VAA/VHB, siendo algo mejor el oligonucleótido conjugado con GalNAc. Ambos oligonucleótidos también dieron como resultado cierta reducción en el ADN del VHB en el suero.

Ejemplo 6 - Efecto *in vivo* sobre la respuesta de los linfocitos T en ratones VAA/VHB

En el presente estudio, se trataron ratones VAA/VHB de Pasteur con un anticuerpo u oligonucleótidos antisentido dirigidos a PD-L1. Los oligonucleótidos antisentido fueron no conjugados o bien conjugados con GalNAc. Durante el tratamiento, se inmunizó a los animales con una vacuna de ADN contra los antígenos HBs y HBc (véase la sección

Materiales y procedimientos) para garantizar un cebado eficaz de los linfocitos T por las células presentadoras de antígenos. Se evaluó cómo el tratamiento afectaba a la población de células en el hígado y el bazo, así como la expresión de PD-L1 en estas poblaciones y si se podía identificar una respuesta de los linfocitos T específicos del VHB.

5 Protocolo de tratamiento:
 Se trataron ratones hembra HLA-A2/DR1 de acuerdo con los protocolos siguientes. El estudio se realizó en dos subestudios separados, con ligeras diferencias en los regímenes de administración como se indica en la tabla 16 y 17 a continuación.

10 Se administraron La vacuna de ADN y el anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en la sección de materiales y procedimientos. Los oligonucleótidos antisentido usados fueron CMP ID NO 748_1 (no conjugado) a 5 mg/kg y CMP ID NO: 759_2 (conjugado con GalNAc) a 7 mg/kg, ambos administrados como inyecciones subcutáneas (s.c.).

15 Tabla 16: Protocolo de tratamiento de ratones VAA/VHB con vacuna de ADN y vacuna de ADN + anticuerpo anti-PD-L1, 6 ratones en cada grupo

Día	Vehículo (grupo 10)	Vacuna de ADN (grupo 11)	Vacuna de ADN + Ab anti-PDL-1 (grupo 13)
0	VAA/VHB		
29*	Aleatorización de los animales		
34	Solución salina+Isotipo	-	Ab
41	Solución salina+Isotipo	-	Ab
48	Solución salina+Isotipo	-	Ab
50	-	CaTx	CaTx
55*	PBS+Isotipo	ADN	ADN+Ab
62	Solución salina+Isotipo	-	Ab
69	PBS+Isotipo	ADN	ADN+Ab
76*	Solución salina+Isotipo	-	Ab
83	Solución salina+Isotipo	-	Ab
97*	Sacrificio		

20 Isotipo = Ab de control de IgG de ratón, CaTx = cardiotoxina, ADN = vacuna de ADN, Ab = Ab anti-PD-L1 y * = recogida de suero

25 Tabla 17: Protocolo de tratamiento de ratón VAA/VHB con vacuna de ADN y vacuna de ADN + oligonucleótido de PD-L1 (ASO) no conjugado o conjugado, 7 ratones en cada grupo

Día	Vehículo (grupo 1)	Vacuna de ADN (grupo 2)	Vacuna de ADN + PDL-1 ASO (grupo 7)	Vacuna de ADN + GN-PDL-1 ASO (grupo 8)
0	VAA/VHB			
29*	Aleatorización de los animales			
39	Solución salina	Solución salina		
41		Solución salina	ASO	GN-ASO
46	Solución salina	Solución salina		
49		Solución salina	ASO	GN-ASO
53	Solución salina	Solución salina		
55	CaTx	CaTx	CaTx	CaTx
56		Solución salina	ASO	GN-ASO

Día	Vehículo (grupo 1)	Vacuna de ADN (grupo 2)	Vacuna de ADN + PDL-1 ASO (grupo 7)	Vacuna de ADN + GN-PDL-1 ASO (grupo 8)
59	PBS+ solución salina	ADN+PBS	ADN	ADN
62*		Solución salina	ASO	GN-ASO
67	Solución salina	Solución salina		
70		Solución salina	ASO	GN-ASO
74	PBS+ solución salina	ADN+PBS	ADN	ADN
77		Solución salina	ASO	GN-ASO
81	Solución salina	Solución salina		
84*		Solución salina	ASO	GN-ASO
88	Solución salina	Solución salina		
91		Solución salina	ASO	GN-ASO
102	Sacrificio			

ADN = vacuna de ADN, CaTx = cardiotoxina, Ab = Ab anti-PD-L1, ASO = oligonucleótido PDL-1 no conjugado, GN-ASO = oligonucleótido GalNAc-PDL-1 y * = recogida de suero

5 En el momento del sacrificio, se recogieron células mononucleares de sangre, bazo e hígado de cada ratón de cada grupo y se redujeron los glóbulos rojos (Lysing Buffer, BD biosciences, 555899). Las células mononucleares de hígado requirieron una preparación específica como se describe en la sección de materiales y procedimientos.

Poblaciones celulares:

10 En el hígado, la población de células se analizó marcando la superficie de las células mononucleares del hígado (véase materiales y procedimientos) usando citometría.

15 No se observaron cambios significativos en las frecuencias de linfocitos NK en el bazo y el hígado de los ratones tratados en comparación con los grupos de control (es decir, grupos inmunizados con vehículo y con ADN). La tabla 18 muestra que, en el hígado, los grupos tratados con oligonucleótido de PD-L1 no conjugado (CMP ID NO748_1) y oligonucleótido de PD-L1 conjugado con GalNAc (CMP ID NO: 759_2) tuvieron un incremento significativo en el número de linfocitos T en comparación con los grupos de control (es decir, grupos inmunizados con vehículo y con ADN) también presentados en la figura 10 A. Este incremento se debió a un incremento en las poblaciones de linfocitos T tanto CD4+ como CD8+(tabla 18 y figura 10B y 10C, respectivamente).

Tabla 18: Linfocitos T en el hígado después del tratamiento en millones de células.

	Linfocitos T (millones)		Linfocitos T CD4+(millones)		Linfocitos T CD8+(millones)	
	Prom.	Est.	Prom.	Est.	Prom.	Est.
Vehículo (grupo 1)	0,77	0,44	0,51	0,35	0,11	0,05
Vacuna de ADN (grupo 2)	0,90	0,24	0,58	0,16	0,16	0,08
Vacuna de ADN + Ab anti-PD-L1 (grupo 13)	1,98	0,90	1,40	0,81	0,41	0,23
Vehículo (grupo 10)	1,73	0,87	1,13	0,55	0,40	0,25
Vacuna de ADN (grupo 11)	1,27	0,97	0,79	0,58	0,32	0,32
Vacuna de ADN + PD-L1 ASO (grupo 7)	3,78	1,31	2,46	0,72	0,79	0,39
Vacuna de ADN + GN-PD-L1 ASO (grupo 8)	3,33	0,66	2,18	0,40	0,67	0,17

25 Expresión de PD-L1:

La expresión de la proteína PD-L1 se evaluó en macrófagos, linfocitos B y T del bazo e hígado en el momento del sacrificio. La presencia de anticuerpo anti-PD-L1 en la mezcla de anticuerpos de marcado de superficie (véase materiales y procedimientos) permitió la cuantificación de células que expresan PD-L1 por citometría.

30

En el bazo, no se observó una diferencia significativa entre los tratamientos en el % de macrófagos, linfocitos B y linfocitos T CD4+ que expresan PD-L1. El % de linfocitos T CD8+ que expresan PD-L1 fue menor en los ratones tratados con oligonucleótido de PD-L1 no conjugado (CMP ID NO 748_1) y oligonucleótido de PD-L1 conjugado con GalNAc (CMP ID NO: 759_2) en comparación con los otros tratamientos (datos no mostrado).

En el hígado, PD-L1 se expresó principalmente en linfocitos T CD8+ con una frecuencia media de un 32 % y 41 % en los grupos de control (los dos grupos de vacunación con vehículo y ADN combinados, respectivamente, figura 11 A). El tratamiento con oligonucleótido de PD-L1 no conjugado u oligonucleótido de PD-L1 conjugado con GalNAc dio como resultado una disminución de la frecuencia de linfocitos T CD8+ que expresan PD-L1 (véase la tabla 19, figura 11 A). También se observaron diferencias significativas en el % de células que expresaban PD-L1 para los linfocitos B y los linfocitos T CD4+ después del tratamiento con ASO, aunque estos tipos de células expresan significativamente menos PD-L1 que los linfocitos T CD8+ (véase la tabla 19 y la figura 11B y C). El tratamiento con Ab anti-PD-L1 también dio como resultado una disminución aparente de la expresión de PD-L1 en todos los tipos de células. Sin embargo, es posible que esta disminución se deba a un bloqueo parcial del epítipo de PD-L1 por el anticuerpo anti-PD-L1 usado para el tratamiento, de modo que se evita que el anticuerpo de detección de PD-L1 en la mezcla de anticuerpos de marcado de superficie se una a PD-L1. Por lo tanto, lo que parece ser una regulación por disminución de PD-L1 por el anticuerpo anti-PD-L1 usado para el tratamiento puede ser el resultado de la competencia de epítopos entre el anticuerpo de tratamiento y el anticuerpo de detección.

Tabla 19: % de la población de células hepáticas con expresión de PD-L1

	% de linfocitos T CD8+		% de linfocitos T CD4+		% de linfocitos B	
	Prom.	Est.	Prom.	Est.	Prom.	Est.
Vehículo (grupo 10)	35,5	4,7	0,75	0,52	5,9	1,5
Vacuna de ADN (grupo 11)	36,8	7,7	0,61	0,08	5,5	1,1
Vacuna de ADN + Ab anti-PD-L1 (grupo 13)	18,6	12,3	0,33	0,10	2,9	1,7
Vehículo (grupo 1)	28,5	11,5	0,64	0,21	5,9	1,7
Vacuna de ADN (grupo 2)	44,9	14,4	1,43	0,69	8,7	3,1
Vacuna de ADN + PD-L1 ASO (grupo 7)	9,6	2,4	0,37	0,21	2,9	0,8
Vacuna de ADN + GN-PD-L1 ASO (grupo 8)	14,6	3,3	0,31	0,11	2,8	0,8

Respuesta de los linfocitos T específicos del VHB:

Los linfocitos NK y los linfocitos T CD4+ y CD8+ que producen citocinas proinflamatorias se detectaron usando ensayos de tinción de citocinas intracelulares (véase la sección Materiales y procedimientos) que detectan la producción de IFN γ y TNF α .

En el bazo no se detectaron linfocitos NK y pocos linfocitos T CD4+ que secretaran IFN γ - y TNF α (frecuencia <0,1 %) en el momento del sacrificio. Se detectaron linfocitos T CD8+ productores de IFN γ dirigidos a los dos antígenos del VHB en ratones tratados con oligonucleótido de PD-L1 no conjugado u oligonucleótido de PD-L1 conjugado con GalNAc, así como en ratones de este estudio que recibieron solo la vacuna de ADN (datos no mostrados).

En los hígados de ratones portadores del VHB inmunizados con ADN, no se detectaron linfocitos NK productores de IFN γ en el sacrificio, mientras que se detectaron linfocitos T CD4+ secretores de IFN γ específicos para el antígeno del núcleo o para S2+S en el hígado de unos cuantos ratones inmunizados con ADN a una frecuencia baja (<0,4 %, datos no mostrados). Se detectaron linfocitos T CD8+ específicos del VHB S2+S que producen IFN γ en la mayoría de los ratones inmunizados con ADN. La frecuencia de linfocitos T CD8+ que secretan IFN γ se incrementó en los ratones tratados con una combinación de vacuna de ADN y oligonucleótido de PD-L1 no conjugado u oligonucleótido de PD-L1 conjugado con GalNAc, mientras que el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 no añadió ningún efecto adicional aparente a la vacunación con ADN (figura 12). Se detectaron linfocitos T CD8+ que producen IFN γ dirigidos a los antígenos de la envoltura y del núcleo en la mayoría de los grupos inmunizados con ADN (excepto el anticuerpo anti-PD-L1) (figura 12B). La mayoría de los linfocitos T específicos de S2-S produjeron tanto IFN γ como TNF α (figura 12C). Los resultados se muestran también en la tabla 20.

Tabla 20: % de linfocitos T CD8+ específicos de los antígenos del VHB (S2-S o núcleo) a partir de la población total de células que producen IFN γ o IFN γ + TNF α

	Linfocitos T específicos de PreS2-S (% de células productoras de IFN γ)		Linfocitos T específicos del antígeno del núcleo (% de células productoras de IFN γ)		Linfocitos T específicos de S2-S (% de IFN γ + TNF α)	
	Prom.	Est.	Prom.	Est.	Prom.	Est.
Vehículo (grupo 10)	0,15	0,37	0,18	0,43	0,00	0,00
Vacuna de ADN (grupo 11)	1,48	1,10	0,47	0,53	0,42	1,02
Vacuna de ADN + Ab anti-PDL-1	1,18	0,95	0	0	0,38	0,49
Vehículo (grupo 1)	0,17	0,45	0,11	0,28	0,00	0,00
Vacuna de ADN (grupo 2)	1,70	1,02	0,27	0,51	0,98	0,90
Vacuna de ADN + PDL-1 ASO	2,56	1,60	0,78	0,80	1,44	1,55
Vacuna de ADN + GN-PDL-1 ASO	3,83	2,18	0,68	1,16	2,62	1,62

Ejemplo 7 - Efecto *in vivo* sobre el antígeno del VHB y el ADN del VHB en el suero de ratones VAA/VHB

5 En el presente estudio, se trataron ratones VAA/VHB de Shanghai (véase la sección Materiales y procedimientos) con el oligonucleótido antisentido de PD-L1 conjugado con GalNAc CMP ID NO 759_2.

Se evaluó cómo afectó el tratamiento a los antígenos HBe y HBs ya los niveles de ADN del VHB en el suero en comparación con los animales tratados con vehículo.

10 Protocolo de tratamiento:

En este estudio se usaron ratones macho C57BL/6 infectados por el virus adenoasociado (VAA) recombinante que portan el genoma del VHB (VAA/VHB) como se describe en el modelo de Shanghai en la sección de materiales y procedimientos. Se inyectó a los ratones (6 ratones por grupo) una vez a la semana durante 8 semanas el oligonucleótido antisentido CMP ID NO: 759_2 a 5 mg/kg o vehículo (solución salina), ambos administrados como inyecciones subcutáneas (s.c.). Se recogieron muestras de sangre cada semana durante el tratamiento, así como 6 semanas después del tratamiento. Se midieron los niveles de ADN del VHB, HBsAg y HBeAg en las muestras de suero como se describe a continuación. Los resultados de las primeras 10 semanas se muestran en la tabla 21 y en la figura 13. El estudio todavía estaba en curso en el momento de presentar la solicitud, por lo que no se han obtenido los datos de las 4 semanas restantes.

Detección de HBsAg y HBeAg:

25 Se determinaron los niveles séricos de HBsAg y HBeAg en el suero de ratones VAA/VHB infectados usando el inmunoanálisis de quimioluminiscencia para HBsAg (CLIA) y el kit HBeAg CLIA (Autobio diagnostics Co. Ltd., Zhengzhou, China, n.º de cat. CL0310-2 y CL0312-2 respectivamente), según el protocolo del fabricante. En resumen, se transfirió 50 μ l de suero a la placa de microvaloración recubierta con el anticuerpo respectivo y se añadió 50 μ l de reactivo de conjugado enzimático. Se incubó la placa durante 60 minutos en un agitador a temperatura ambiente antes de lavar todos los pocillos seis veces con tampón de lavado usando una lavadora automática. Se añadieron a cada pocillo 25 μ l de sustrato A y, a continuación, 25 μ l de sustrato B. Se incubó la placa durante 10 min a TA antes de medir la luminiscencia usando un lector de luminiscencia Envision. El HBsAg se administra en la unidad UI/ml; donde 1 ng de HBsAg = 1,14 UI. El HBeAg se administra en la unidad NCU/ml de suero.

Extracción de ADN del VHB y qPCR:

35 Inicialmente, se diluyó el suero de los ratones en un factor de 10 (1:10) con solución salina tamponada con fosfato (PBS). Se extrajo el ADN usando el robot MagNA Pure 96 (Roche). Se mezclaron 50 μ l del suero diluido en un cartucho de procesamiento con 200 μ l de tampón de lisis externo MagNA Pure 96 (Roche, n.º de cat. 06374913001) y se incubó durante 10 minutos. A continuación, se extrajo el ADN usando el "MagNA Pure 96 DNA and Viral Nucleic Acid Small Volume Kit" (Roche, n.º de cat. 06543588001) y el protocolo "Viral NA Plasma SV external lysis 2.0". El volumen de elución de ADN fue de 50 μ l.

45 Se realizó la cuantificación del ADN del VHB extraído usando una máquina qPCR Taqman (ViiA7, life technologies). Cada muestra de ADN se analizó por duplicado en la PCR. Se añadió 5 μ l de muestra de ADN a 15 μ l de mezcla maestra de PCR que contenía 10 μ l de TaqMan Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, n.º de cat.

4369016), 0,5 µl de cebador/sonda para qPCR PrimeTime XL (IDT) y 4,5 µl de agua destilada en una placa de 384 pocillos y se realizó la PCR usando los siguientes ajustes: incubación con UDG (2 min, 50 °C), activación enzimática (10 min, 95 °C) y PCR (40 ciclos con 15 s, 95° para desnaturalización y 1 min, 60 °C para hibridación y extensión). Se calcularon los números de copias de ADN a partir de los valores C_t basados en una curva de calibración de ADN plasmídico del VHB por el programa informático VIIA7.

Secuencias para cebadores y sondas TaqMan (IDT):

Cebador directo para antígeno del núcleo (F3_core): CTG TGC CTT GGG TGG CTT T (SEQ ID NO: 784)

Cebador inverso (R3_core): AAG GAA AGA AGT CAG AAG GCA AAA (SEQ ID NO: 785)

Sonda Taqman (P3_core): 56-FAM/ AGC TCC AAA /ZEN/ TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G /3IABkFQ (SEQ ID NO: 786).

Tabla 21: Niveles de ADN del VHB, HBsAg y HBeAg en suero de ratones VAA/VHB después del tratamiento con oligonucleótido antisentido de PD-L1 conjugado con GalNAc.

Día	Solución salina						CMP ID NO: 759_2 a 5 mg/kg					
	ADN del VHB		HBsAg		HBeAg		ADN del VHB		HBsAg		HBeAg	
	Prom.	Est.	Prom.	Est.	Prom.	Est.	Prom.	Est.	Prom.	Est.	Prom.	Est.
0	7,46	0,35	3,96	0,48	3,23	0,14	7,44	0,29	3,87	0,40	3,17	0,13
7	7,53	0,23	4,17	0,45	3,35	0,10	7,53	0,20	3,91	0,42	3,19	0,18
14	7,57	0,24	4,12	0,49	3,19	0,11	7,45	0,22	3,90	0,50	2,99	0,27
21	7,47	0,27	3,93	0,51	3,12	0,05	7,33	0,47	3,71	0,76	2,78	0,26
28	7,68	0,26	3,88	0,67	3,18	0,13	7,45	0,46	3,65	0,93	2,67	0,38
35	7,69	0,21	4,03	0,54	2,95	0,08	7,13	0,75	2,98	1,05	2,04	0,38
42	7,58	0,23	3,89	0,65	3,34	0,10	6,69	0,89	2,60	1,05	1,98	0,45
49	7,77	0,17	3,54	1,06	3,08	0,26	6,56	1,26	2,19	0,70	1,47	0,37
56	7,71	0,24	3,99	0,86	3,28	0,05	6,21	1,48	2,28	0,84	1,38	0,30
63	7,59	0,28	3,67	1,07	3,25	0,13	6,08	1,39	2,08	0,71	1,35	0,30

A partir de este estudio se puede observar que el oligonucleótido antisentido de PD-L1 conjugado con GalNAc CMP NO759_2 tiene un efecto significativo sobre la reducción de los niveles de ADN del VHB, HBsAg y HBeAg en suero después de 6 semanas de tratamiento, y el efecto se mantiene durante al menos 2 semanas después de finalizado el tratamiento.

Ejemplo 8 - Atenuación de PD-L1 *in vitro* en hepatocitos primarios humanos usando oligonucleótidos de PD-L1 conjugados con GalNAc

Se investigó usando la genómica la capacidad de los compuestos de oligonucleotídicos antisentido de PD-L1 conjugados con GalNAc para reducir el transcrito de PD-L1 en hepatocitos humanos primarios.

Cultivo celular

Se suspendieron hepatocitos humanos criopreservados en WME complementado con suero de ternero fetal al 10 %, penicilina (100 U/ml), estreptomina (0,1 mg/ml) y L-glutamina (0,292 mg/ml) a una densidad de aprox. 5×10^6 células/ml y se sembraron en placas de 24 pocillos recubiertas de colágeno (Becton Dickinson AG, Allschwil, Suiza) a una densidad de 2×10^5 células/pocillo. Se cultivaron previamente las células durante 4 h permitiendo la unión a placas de cultivo celular antes de comenzar el tratamiento con oligonucleótidos a una concentración final de 100 µM. Los oligonucleótidos usados se muestran en la tabla 21 y la tabla 8, el vehículo fue PBS. Se reemplazó el medio de siembra por 315 µl de WME libre de suero (complementado con penicilina (100 U/ml), estreptomina (0,1 mg/ml), L-glutamina (0,292 mg/ml)) y se añadieron 35 µl de soluciones madre de oligonucleótidos 1 mM en PBS al cultivo celular y se dejó en las células durante 24 horas o 66 horas.

Preparación de la colección

El perfil de expresión de la transcripción se realizó usando la química de ARNm de Illumina Stranded en la plataforma de secuenciación de Illumina con una estrategia de secuenciación de 2 lecturas finales emparejadas de 51 pb y una profundidad de lectura mínima de 30 M por muestra (Q al cuadrado EA). Se lisaron Las células en los pozos añadiendo 350 µl de tampón Qiagen RLT y se incorporaron en un esquema de aleatorización.

Se purificó el ARNm usando el Qiagen RNeasy Mini Kit. Se cuantificó el ARNm y se evaluó la integridad usando un bioanalizador Agilent. Tras la evaluación de la calidad inicial del ARN aislado, se observó que todas las muestras cumplían la métrica de calidad de entrada de 100 ng con puntuaciones RIN >7,0.

Se generaron colecciones de secuenciación para todas las muestras usando la preparación de colecciones de ARNm Illumina TruSeq Stranded, comenzando con 100 ng de ARN total. Se analizaron las colecciones de ADCc finales para determinar la distribución de tamaño y, usando un Agilent Bioanalyzer (kit DNA1000), se cuantificaron mediante qPCR (KAPA Library Quant Kit) y se normalizaron a 2 nM en preparación para la secuenciación. Se usó el Standard Cluster Generation Kit v5 para unir las colecciones de ADNc a la superficie de la cubeta de lectura y el cBot de forma isotérmica para amplificar las construcciones de ADNc unidas hasta clústers clonales de ~ 1000 copias cada uno. La secuencia de ADN se determinó mediante tecnología de secuenciación por síntesis usando el kit TruSeq SBS.

Procesamiento de datos

Se asignaron lecturas de secuenciación de extremo emparejado de Illumina de 2x51 pb de longitud en el genoma de referencia humano hg19 usando el programa de alineación de lectura corta GSNAP. Se convirtieron las alineaciones en formato SAM en archivos de alineación ordenados en formato BAM usando el programa SAMTOOLS. Se estimaron los recuentos de lectura de genes para PD-L1 en base a la anotación de exones de NCBI RefSeq, especificada por el archivo GTF correspondiente para hg19. Se aplicó un paso de normalización que considera el tamaño diferente en la colección de cada muestra usando el paquete DESeq2 R.

La reducción en el transcrito de PD-L1 después de la incubación con compuestos de oligonucleótidos antisentido de PD-L1 conjugados con GalNAc se muestra en la tabla 22.

Tabla 22: Reducción del transcrito de PD-L1 en hepatocitos primarios humanos después del tratamiento con oligonucleótidos conjugados con GalNAc, n=4

Compuesto	Nivel de expresión de PD-L1 24 h (recuentos ajustados al tamaño en la colección)	Nivel de expresión de PD-L1 66 h (recuentos ajustados al tamaño en la colección)
Vehículo	259	156
	159	168
	192	136
	202	211
767_2	7	7
	11	14
	22	9
	28	15
766_2	16	13
	15	10
	17	11
	29	13
769_2	15	21
	18	18
	25	18
	26	25
768_2	41	25
	27	48
	31	25
	34	22
770_2	21	16
	44	62
	67	51
	38	63

Los cinco compuestos antisentido conjugados con GalNAc mostraron una reducción significativa del transcrito de PD-

L1 después de 24 y 66 horas de incubación en comparación con las muestras tratadas con vehículo.

Ejemplo 9 - CE50 de oligonucleótidos antisentido de PD-L1 no conjugados y conjugados en células ASGPR-HepaRG infectadas por el VHB

Se comparó la potencia de dos oligonucleótidos antisentido de PD-L1, no conjugado y el equivalente conjugado con GalNAc, en células ASGPR-HepaRG infectadas por el VHB.

Línea celular

Se cultivaron células HepaRG (Biopredic International, Saint-Gregoire, Francia) en medio de Williams E (complementado con un suplemento de crecimiento de HepaRG al 10 % (Biopredic)). A partir de esta línea celular, se generó una línea celular HepaRG que sobreexpresa de manera estable ASGPR1 y ASGPR2 humanos usando un procedimiento lentiviral. Se transdujeron células HepaRG en proliferación en MOI 300 con un lentivirus producido a demanda por Sirion biotech (CLV-CMV-ASGPR1-T2a_ASGPR2-IRES-Puro) que codifica ASGPR1 y 2 humanas bajo el control de un promotor de CMV y un gen de resistencia a la puomicina. Se seleccionaron células transducidas durante 11 días con 1 µg/ml de puomicina y, a continuación, se mantuvieron en la misma concentración de antibiótico para garantizar la expresión estable de los transgenes. Se confirmó la sobreexpresión de ASGPR1/2 tanto a nivel de ARNm mediante RT-qPCR (ASGPR1: 8560 veces frente a no transducido, ASGPR2: 2389 veces frente a no transducido), como a nivel de proteína mediante análisis por citometría de flujo.

Se diferenciaron las células usando DMSO al 1,8 % durante al menos 2 semanas antes de la infección. El genotipo D del VHB se derivó del sobrenadante del cultivo celular HepG2/2/15 y se concentró usando precipitación con PEG. Para evaluar la actividad de los compuestos de prueba frente al VHB, se infectaron células ASGPR-HepaRG diferenciadas en placas de 96 pocillos por el VHB a una MOI de 20 a 30 durante 20 h, antes se lavaron las células 4 veces con PBS para extraer el inóculo del VHB.

Potencia de los oligonucleótidos

Los siguientes oligonucleótidos

PD-L1 ASO no conjugado	Equivalente de PD-L1 ASO conjugado con GalNAc
CPM ID NO: 640_1	CPM ID NO: 768_2
CPM ID NO: 466_1	CPM ID NO: 769_2

se añadieron a las células ASGPR-HepaRG infectadas por el VHB el día 7 y el día 10 después de la infección usando diluciones seriadas de 25 µM a 0,4 nM (diluciones 1:4 en PBS). Se recolectaron las células el día 13 después de la infección.

Se extrajo el ARNm total usando el kit de gran volumen de ARN celular MagNA Pure 96 en el sistema MagNA Pure 96 (Roche Diagnostics) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para el análisis de la expresión génica, se realizó una RT-qPCR como se describe en el ejemplo 5.

Los datos se analizaron mediante el procedimiento 2⁻ddct. Se usó actinaB como control endógeno para calcular los valores de ddct. La expresión de PD-L1 es con respecto a los controles endógenos y al vehículo de solución salina.

Los cálculos de la EC50 se realizaron en GraphPad Prism6 y se muestran en la tabla 23.

Tabla 23: CE50 en células ASGPR-HepaRG infectadas por el VHB, n=4.

CMP ID NO	CE50 (µM)
640_1	2,25
768_2	0,10
466_1	5,82
769_2	0,13

Estos datos muestran claramente que la conjugación con GalNAc de los oligonucleótidos antisentido de PD-L1 mejora significativamente los valores de CE50.

Ejemplo 10 - Función de estimulación de los linfocitos T en PBMC derivadas de pacientes con infección crónica por el VHB

Se investigó si los compuestos antisentido de PD-L1 no conjugados podrían incrementar la función de los linfocitos T de pacientes con infección crónica por el VHB (HBC) después de la estimulación ex vivo de los antígenos del VHB de

las células mononucleares de sangre periférica (PBMC).

Se descongelaron y sembraron PBMC congeladas de tres pacientes con infección crónica por el VHB a una densidad de 200 000 células/pocillo en 100 µl de medio (RPMI1640 + GlutaMax + suero humano al 8 % + Hepes 25 mM + PenStrep al 1 %). Al día siguiente, se estimularon las células con PeµMix HBV Large Envelope Protein 1 µM o PeµMix HBV Core Protein 1 µM (véase la tabla 9) con o sin 5 µM de CMP ID NO: 466_1 o CMP ID NO: 640_1 en 100 µl de medio que contenía 100 µg/ml de IL-12 y 5 ng/ml de IL-7 (la estimulación con concanavalina solo se aplicó el día 8). Cuatro días después, se renovó el tratamiento con oligonucleótidos antisentido de PD-L1 con medio que contenía 50 UI de IL-2. El día 8 después de la primera estimulación, se volvieron a estimular las células con PeµMix o 5 µg/ml de Concanavalina A más oligonucleótido antisentido de PD-L1 durante 24 h. Durante las últimas 5 h de la estimulación, se añadieron 0,1 µl de Brefeldina A, 0,1 µl de Monensina y 3 µl de anti-CD-107 humano (APC).

Después de 24 h, se lavaron las células con tampón de tinción (PBS + BSA al 1 % + azida sódica al 0,09 % + EDTA) y se aplicó tinción superficial durante 30 min a 4 °C [anti-CD3 humano (BV605), anti-CD4 humano (FITC), anti-CD8 humano (BV711), anti-PDL1 humano (BV421), anti-PD1 humano (PerCP-Cy5.5) y tinción viva y muerta (BV510) (BD Biosciences)]. Se fijaron las células en tampón de fijación BD durante 15 min a 4 °C. A la mañana siguiente, se permeabilizaron las células con BD Perm/Wash Buffer durante 15 min a 4 °C y se realizó una tinción intracelular durante 30 min a 4 °C [anti-IFNγ humano (PE)]. Después de lavar en tampón de lavado/permeabilización, se disolvieron las células en 250 µl de tampón de tinción.

La medición por FACS se realizó en un BD Fortessa (BD Biosciences). Para el análisis, la población celular completa se seleccionó primero en células vivas (tinción Live and Death, BV510) y a continuación en células CD3+ (BV605). A continuación, las células CD3+ se representaron gráficamente como CD107a+ (APC) frente a IFNγ+ (PE).

Los resultados se muestran en la tabla 24.

Tabla 24: Efecto del tratamiento con PD-L1 ASO en linfocitos T CD3+ de PBMC aislados de tres pacientes con infección crónica por el VHB.

	Sin estimulación de antígenos			Antígeno de la envoltura			Antígeno del núcleo		
	Solución salina	CMP 466_1	CMP 640_1	Solución salina	CMP 466_1	CMP 640_1	Solución salina	CMP 466_1	CMP 640_1
INFγ- /CD107+	1,16	4,95	4,81	4,7	9,12	8,62	3,84	9,66	7,31
	2,7	3,59	2,74	2,57	3,69	3,2	3,25	3,34	2,92
	3	3,87	3,98	4,59	12,5	10,9	9,23	6,11	6,88
INFγ+/CD 107+	0,12	1,03	1,15	3,19	17,3	18,9	2,38	15,1	5,75
	0,49	3,12	1,75	2,73	7	5,34	1,63	2,35	1,9
	0,24	1,13	1,5	1,6	8,16	3,06	1,68	1,9	1,91
INFγ+/CD 107-	0,33	1,43	1,08	5,11	7,74	9,47	3,14	7,76	2,83
	0,61	2,9	2,26	7,84	5,79	5,78	2,33	2,82	2,95
	0,17	1,57	1,72	1,22	2,58	0,99	0,1	0,61	1,04

A partir de estos datos, se puede observar que la estimulación del antígeno por sí misma es capaz de inducir la activación de los linfocitos T (% de incremento de las células CD3+ que expresan INFγ y/o CD107a) en las PBMC de pacientes con HBC (n=3). La adición del oligonucleótido antisentido de PD-L1 CMP466_1 o 640_1 dio como resultado un incremento adicional de la respuesta de los linfocitos T CD3+. Este incremento se observó principalmente en el grupo con estimulación de la envoltura del VHB.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> F. Hoffmann-La Roche AG Roche Innovation Center Copenhagen A/S

5 <120> OLIGONUCLEÓTIDOS PARA LA REDUCCIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PD-L1

<130> P33358-WO

<160> 786

10 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 20064

15 <212> ADN

<213> homo sapiens

<400> 1

ggcgc	aaacgc	tgagcagctg	gcgcgtcccg	cgcggcccca	gttctgcgca	gcttcccagag	60
gctccgcacc	agccgcgctt	ctgtccgcct	gcaggtaggg	agcgttggtc	ctccgcgggt		120
gcccacggcc	cagtatctct	ggctagctcg	ctgggcactt	taggacggag	ggtctctaca		180
ccctttcttt	gggatggaga	gaggagaagg	gaaagggaac	gcgatggtct	agggggcagt		240
agagccaatt	acctgttggg	gttaataaga	acaggcaatg	catctggcct	tcctccaggc		300
gcgattcagt	tttgctctaa	aaataattta	tacctctaaa	aataaataag	ataggtagta		360
taggataggt	agtcattctt	atgcgactgt	gtgttcagaa	tatagctctg	atgctaggct		420
ggaggtctgg	acacgggtcc	aagtccaccg	ccagctgctt	gctagtaaca	tgacttgtgt		480
aagttatccc	agctgcagca	tctaagtaag	tctcttctcg	cgctaagcag	gtccaggatc		540
cctgaacgga	atattattgc	tctgtccatt	ctgagaaccc	aaaggagtcc	taaaagagga		600
atggaggagc	ctaagaataa	aaatagtata	ataaaacatt	tcttagacac	attgaccttg		660
gcctatgtca	aagttcagtc	tgggtttgtc	ttataacaca	aggagtaaaa	gtaccattgt		720
tctacctctt	ttttaataac	ttgaaaaaaaa	tttactgtgg	atgcttttct	atgaattaaa		780
taaccttcta	aaaaatgttt	tcattgctgc	attcgattag	attgggtaac	taaatgaaat		840
taattcctca	ctgttgggta	taaaggttat	ttacagtggg	tctgtcttag	ccattcactg		900
aaactcattgc	atatatatct	ctggaatatt	gctgattggt	tccttcaagt	aaacttagaa		960
gtgtaactac	ttagtcaaag	agcctgaata	ttttaaaggc	cttttgaaga	aaactgaaaa		1020
tgctttccag	aaaggatgta	tcagttgaca	atgacagtcg	tcaacagtat	ttaaggagaa		1080
ctatgatact	ctgaagaaaa	acttagcctt	tctcagtaaa	agtaggtagg	cagaggccac		1140
atgacagcag	ttagagtgtg	gtcttcaagg	aagtcacaga	aatactgtgg	ggaattgaaa		1200
ccccatgtgg	aaaatgtaca	agagtgtctc	agtgtgactg	agaaggaggt	tgggcatggg		1260
gtttcatgga	gtttaataaaa	gtttggtcac	ttagtagagg	tttaataaat	caactgtctt		1320

20

ES 2 857 702 T3

aatctttgat cctacttaag aatTTTTTTTT ttgtttttgt agagatgggg ctcttgttat 1380
gttgcccagg ctgtttctoga actcctagcc tcagggcgc ctcctcctc aggctccaga 1440
agtcctggga ttactggcgg gagccacat gcagggcctct tgctcctact tttgagaaag 1500
gaagttaaac cggTTTTTTTT tgtctTTTTTT tttttttttt tgagacagag tctcactctg 1560
ttgcccagtc tggagtgcag tgggtgcaatc tcagctcact gcctcccggg ttcaagtgat 1620
tctcctgcct cagcctcccg agtagctggg actacaggca cctgccacca cgcccagcta 1680
atTTTTgtat ttttagtaga aatgggggtt caccatattg gccaggctga tctcgaactc 1740
ctgacctcag gtgatccgcc tgcctcggcc tcccaaagtg ctgggattac aggcattgagc 1800
cactgctcct ggctgcttaa ctttttctct atctcatcct cctaccatc ctacccttg 1860
aagatagaga agtagtatta gttccatagt gttatactgg gcttccccca gggacaaacc 1920
cacttccccca acctgaatga gccatcactt cttccccagt ttacatttca ttgctcttta 1980
aatgtctcca ttoggatatg ggaattcaca tatggtcata attcttacct gaagaagatg 2040
tcagtcttct tctcttagac caactgccct gatatgaggt ttagaggtta aagaacatgt 2100
gtgtatttac atgatctttg tattctgcct tttcgtccct cactaatgac agctgcaccc 2160
caaggaaatg gagctgtgga agagaggggt tgataagaaa ttaagtaaat attggatcta 2220
atccatcacc ctccaggaag cctttattac tcctaaaaat ttcaaccaa ttcatataag 2280
gacaagaact ccaccagagt aggcataaaa cattggcaaa attagttgta atccatgact 2340
agatttaatg tccctttggt ttattcccat atgggtataa tgctttgctt ggcattaggg 2400
gtattttaag ttttctctg cctagtaagt gaatttgtgt ttataataca ataataca 2460
aatatcacat taatatttta taactgtaca gttataaaat attttataag taatatttat 2520
atTTTataag taatatttta taactgtaca gttactctg gcccaaggaa aagatagtct 2580
gatagatgct gcagccocat tttagcaaat gtgacctcac aggcctgaat gccatcgcta 2640
ttccacatct acaggataga cggaaaggaa agaaataaaa aataggtac ctaacactgg 2700
caagaggatg atgactcatg ttatttctact taacctttt atcttttaac atgaaggact 2760
catacagggt gataagaaac cagtgcata aacagaccaa aaaatgatca gatctttcaa 2820
attagcaaaa aaataatatt ttttaacaa tgggtgaaaa tacagtgtaa cagtaccaat 2880
tatcaacatg tgttgagaac cagaaaaatg ttctttttct ttgatcagca acactatttg 2940
ggaaaatcta tcctcagggc ctagcctggg gccctggcac acagtaggca ctcaacgaat 3000
atTTgctgaa cacacaaata cttatgatat tttaaaaaat tggcaacaat ctgataccta 3060
acaatagagg gattaaatat tatggaactg ttaaataaga tgcttatgaa taccatgcag 3120
taagatgggc aatatttatg ccataagctt taatgaaaca aatgggtatt aatgtatga 3180
taaggttata aattactttt taaaagatta cagggaaaaa aattgaaaga tatacactga 3240

ES 2 857 702 T3

aatgtttttt gctcacagtg gtgacaaggt ttctcagcac tggcactgtt gacgttttag 3300
gctgtatgtc tttgctgtgg gaggtggcc tgtgactgc aggggtgttg gcagcactct 3360
tggcctctgc ccctagatag caatagcagt cctccctcaa ccagcccaat tttgacaacc 3420
aaaaatgttt ccaggcatca ccagatgctc cctgggtgag agtgatgaaa tagtagggga 3480
ttttcccctt cttttcttat tttctgtaat tccattatat tactttaata ataaagaaaa 3540
aacataaaa aataaacgaa tgttattatt ctacgtcagt ttggatgttt ggactccatt 3600
ttggggttct ttccattata tcacttggtc tgctaaacat tctacggttt ggtaaggatga 3660
agtgattcat gaaattttgg ttttattttt ttctgatac taaaaataaa acattctttc 3720
acttggaaat ttggacacag aacacccaaa aaaatccata atctcatctc tctttttctg 3780
tcttttctt ccttttttcc ctttaaaaac aataaagagt gaaacctacc tgttctccct 3840
ctaatttaat tctaaatat aatcactgtc aatatcttgg acatttctctg tgtctaaaca 3900
cacacacaca cttttttttt tcagcaaaag tggatttctg ctacatgtag tgttctgcaa 3960
cttactttct atgtgtttac aaaatcagta catgtacata tgctgaattc agtccttaat 4020
ggattatat tttgtgaata taccaaaatt tgtttaacca cttagacaat ctaggatatt 4080
ctcagtttgc tgttatgagc aatgctcttc ctttacatat acagacatat atatatatat 4140
gtgtgtgtgt gtgtttttgt tttagtagga tagatttcta ggagaggggtg aaaggctta 4200
tgacatccgc atttacgatt gtaataggaa gtatcaaagt gccccctaaa gaaaaaatc 4260
ctcccattag tgggtaagaa agcctatttg ttcatatctt cacaaacact aaatattaga 4320
aatatttaca attgtggtca agctcataag tgaaaatggg atttcatatc ttatattttt 4380
tattgtgaga ttgaacatct ttcatatggt tacatgtcac ctgtatttct tattctctga 4440
actatatggt atgaoccttc actttttttc ctcatgggtt atgtgtagtt tgtatagttg 4500
tcttattgat tgttaggagc tatttatata ttaggaacat taatctctctg tcttatatat 4560
acgtggcatc gattagttga tcatttgtga gttcatgtct gtatacaaag attggagagg 4620
cactaagagg gaaaacttac ctctttctta tcaaagtttg taaatatatg tataacagaa 4680
gaggagaaa atattaataa atgcacagat tggctgaaat agagtataaa tcttttactc 4740
ccctacttca acataaactg caaaaggaga gtgacttttc tttcactctg acttccgtat 4800
tctcatgct taaaatagtg cctagcacag aagaggtgct caatcagtgt ttgctaaacg 4860
aaataattag tcacatttca agcaggatga ctaaataag aatagaatct aggcagatac 4920
tctggaagag tggctgtgag tcattcatat cttagtatga attagtcaa tccaactctc 4980
tccccttccc actccccact gttagtagaa gaatctgttt attgagagaa tagatttata 5040
attagaata agtgagaggg gcagaagagg agattttgaa ggatggcacc tgaaggagga 5100

ES 2 857 702 T3

ctagcatggc tgagacagtg aagtggaagc cttgaatagc taaagggtaa gatgaaagta 5160
tttagctgta gggggaaaaa gcattgacag gttggaaaag taaaagtcag attctccttg 5220
ctctgaaatt ttgtacaggg caggttctac taggtatggt acaatgcaga aaaaacatga 5280
aataattgag aggaatthgg tgcaatatta tcttcttggc ttcttttgag tgggcagatt 5340
tttttcacgg cctgtaacta taataaattt gaaacttctc atcttttagt aacttttttc 5400
acttaagttt atgtggctgt gggcaatgga atgaagatat tgaacttcca attccctggt 5460
gggtttccac aattacaagt caatcatgac tggttattag aagactatth cagttagaac 5520
caccaagtc ccatthgtca tathgtatgt ttaattatta agtgaagcag tcttcttttc 5580
gtgttttcca taattagggc attccagaaa gatgaggata tttgctgtct ttatattcat 5640
gacctactgg catttgctga acggtaagac accaaatcct tccattaggt tctatattth 5700
aaatattthta accatgagtt taaaactaaa atgatcattt aaaatgcatg caattthctt 5760
atagagagaa cattctatthc tttcttctac tttacacaat ggcaaagtct tctthctact 5820
ttacgcaatg ataaagttac ctgtgtcatt ttgtaaaaat atagagaata tagacaaatt 5880
gaaagacaca aaataatcta ttaccattt cccagggtha actactgaaa atatctgggg 5940
aatggcctg tatgtataca tttattthgtt tgctthcaac aaggccaaga tcctthgatc 6000
tttcagthctt ggttgctctg tgacatgcct thcctgatga ggatactthta aggaagaatt 6060
gtaagataca tggaaaatgt caggctaaca cagtactggc atcaccctgt gctctthctc 6120
gaactccata ccaatgtact tctthccaga aaactgatca aaagthtagg gaagtaaaaa 6180
gagatgactg ttagaatcta ccattccctc tatgtaggaa gcaaataggt gthcctgtcaa 6240
aggacattct ggggatgtct acatgaaacc aagtctccct ggttgtaagg actccatctc 6300
catataatat ttatacagta atatatgtht ataaattgtg ggggcaactt gthtagctaa 6360
ttthattatt ctgctattgg gacactgtgt ctgacatga gatatagtht cccaaaacat 6420
atthcaagcc cattggataa aatatgtgth tagcaagthc ttaaataaa tgataacata 6480
accgaccaga taaagthatt tataaacgct gthccaattt thgaaatgth thgaggaatt 6540
thccctthtc tgaagattgt cctthctthc ththtagcatt tactgthcac gthcccaagg 6600
acctatatgt ggtagagtht ggtagcaata tgacaattga atgcaaathc ccagthgaaa 6660
aacaattaga cctggctgca ctaattgtct atthggaaat ggaggataag aacattatthc 6720
aatthgtgca tggagaggaa gacctgaagg thcagcatag thagctacaga cagagggccc 6780
ggctgthgaa ggaccagctc thccctgggaa atgctgcact thcagatcaca gatgthgaaat 6840
thcaggatgc aggggtgtac cgctgcatga thcagctatgg thgtgcccac thacaagcgaa 6900
thactgtgaa agthcaatgth aagaattatt atagatgaga ggcctgatct thattgaaaa 6960
catattccaa gthgtgaaaga cththctthc thgtgaagthc atactthatt thcaacagaa 7020

ES 2 857 702 T3

cagcatagtc tgttcattca ttcattcaat tcatgaattc attcacataa ttatccaatt 7080
 tcttgagcac ctattingata gtcactggaa atccagagac aaacaacaca gagccatggt 7140
 ctacagtatg tacagttttc caaaaagaat ttctagtctt tactttttta ttacaaatgg 7200
 aatacgtata cttgcaaata attcagatac tgtggaagag atcaaatgaa ttgcaaaagt 7260
 gtccctcctc ccttcaccac tatctcccat ggcatgcaga gagagtaacc attattingt 7320
 tgtccctcca gaaattingt tattcaacta ctattingt attingtattag gtccgtcagt 7380
 tttccttingt tgagcctctc tatatcaaat gcaataaat atattcagaa caaacccac 7440
 tgtaagggtc acattaaaaa agacttgaag tcaccctatg aagacaaaaa ataatcacat 7500
 taagtgtgaa agaacctatt cttccagtac aggataagcc atacttactg ggcatatatt 7560
 catcttgaaa atctatactg atgttgtctt ggggaattga aaaggaacta ggagtgttag 7620
 ttcctcggta ttgaccocaca gttatgttat caggctcactt gagttcaaag ttttgtgttg 7680
 gcactagcta agtaaaggaa aacacctctg ctttcattgt tgagtttcac agaattgaga 7740
 gctgaaagga tcccaggcag gagcagctaa tccaaactcc cacaaagaac aaaaatcccc 7800
 cagaggatct tctgttctta ttttctctgc aatggcgtcc ctgtcatatc ccacaatggc 7860
 ctccctgcc tttggatata ccttccatat cctggtgaaa ttactcccta atagtaagct 7920
 gaaatctgcc cctctagttg tagtcttggg attattingt ttacatgatg accttttaat 7980
 atttgactag aattaaatca tctccccttg gtctttccat tcttgggcta actaccatca 8040
 atctgagggc taacaatata agtagaaaa gtatacattt gtcactgatc actgatcaat 8100
 tattaatcaa tgatcactga taactataaa ctcaaaaaca aatcatgtg gggattaaga 8160
 gaaatgtatc agttttatgt tgtattingt gtccctgata ctggctcagg taatgccact 8220
 attgtcaaga agataccact tgtaaagtag atttaattingt cattatatt taccatatgc 8280
 ttctccattc atgacatctc ttgagatgtt gtggtttata ctttcagttt ttctccagtc 8340
 catcogcaaa tatcaggcat ctactgtgtt ccaagatatt aaagaaatca tcatgactta 8400
 gcctcatcaa cagcattgct agatctggga tggaaaggaa gagtataatc ctggcagtca 8460
 ggaagaaggc agcataaagt ataagtttct gcttccaaaa aaggctctc atcagcctgt 8520
 agggagtgtg tagggaaggg acagctgtcc ttgtagttag gaagggttingt attcaggtcg 8580
 tctgggctcc ataatatccc ttgtgtatct gcagtctcct ttgccatgga tcaacacaat 8640
 aggaaatctt coggcactga tggtttttcc aagggggagt tcttctgga gcaaagcaaa 8700
 tgaccaacca ggtttgagga cctgatttgt ttgacaattc cttttgtat tgtaaattac 8760
 ttaattggca ttctactccc aatccatctt gtcatttgca tacagtgggt ttgggattga 8820
 gttcagctat accaaaagtc tgaaccttct gcacttagaa caaggcaacc accaagcttc 8880

ES 2 857 702 T3

acttgcaactg aggccogtgc tccaatggaa atgaggcagc tggcttgcag gagcttccca 8940
 actcagggaa gtagaactcc tgagtcacct ccatatgcaa atgatttcac agtaatgctg 9000
 ttgaacttca cttcccatca cagcaaatgt gtggtaacat agcttcccca caggagttta 9060
 ctaccatgg tatttttaaag gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaaag aatttagttt 9120
 tggattcact caattatcac taccacttcg ggtgttattg cacctttctt gtttgtgagt 9180
 ttaaatgcc a gactctcagg ccactaactt tcaattaaaa gtgtttttct ttaatcgctg 9240
 aacctaacag cagggaaaac gaaatgttca ttcagacttt cagaaccttc aatgagatta 9300
 ggcagctgaa agatcaaagt gttgcatagt tgtcccgata aagctatttg gatcatatgg 9360
 accaaatcga ctgctgtcat tccccaccaa ccccatctct ccccaaaatt cccagccctg 9420
 ttttaagtgt ctctgtagca tttatctcta tctagtatat tgtgtagcat atcatatcat 9480
 acttttctgt tttgtttatt gtctctctcc tccatagaata taaactccac aagcaciaaag 9540
 atttgggcct gttttataat attgttgcac cccaggggcc tgatatacag cagagtgggtg 9600
 gtacgaaaag agcacacaaa aaaatatttg ttgagtcaat gaatgaatga tttcctcaaa 9660
 taggattagc ctaaaatfff ggaaacatga acagatttgg atatgtgaaa atttatttcc 9720
 agactgttca tcaggaactg ttagcagctt ctaaagggt a cactggagca gcagtagtaa 9780
 aaggaggaag aggagcagct ctgctactgc tactatcgag tactactaca attagcactt 9840
 gcttattctg tgtgttaggc cctgtactga acactctgtc taaattagtt catttctctc 9900
 tggaaatgac tctaggggggt aagtgttca tcatgtaaga tgagtatttt tcacattttg 9960
 ttgtgtctga aatctgagtg tgtctttcaa tgatggaatc tttgattcca tgataagtgg 10020
 tattattccc attttaagga tgaggaaact gaggtccaaa gaaattaagt aatttgccca 10080
 aattcaccoca gcctagaaaa tgataaagct agttctaaac ccaagcagat tagctctgaa 10140
 gtctgggccc ttaataaoca ctttttattg cctatatttg tacctctggt gtacgtatca 10200
 agttatatgt tgacttcaaa actatcatga ctttttcttg gttttgattg tccaacatta 10260
 gtatagtgtt ctgggtctgc aaaaattttg attactcatc tcatctgtaa aacattttga 10320
 actcgtgtgt ttgtgcatgc acatttgtgt gtaattataa aaattttact ttctgttaat 10380
 atataagttg tatcataaga aactgccgtt tttgaagagc aaaaaaagg tgaatgttac 10440
 cagttacatc tggttcaacc taatagacat ttgtacaaaa acagacattt taagagggtg 10500
 aaataaaaaat ttaataaaca atattttcag tttttactaa ttgtgatgct tcactatcat 10560
 tagctaatat gtcaaggcat aatatacctt aggggtgaact ttatcattaa caaagggtga 10620
 tgggtgcaat aatcttgagg tttgtgtttt tttatataac actgcgaggt ctaattaagt 10680
 acttactgtt taccacctca tacagtggcc gataaaaagt gtcacttctg ctgtttcctc 10740
 tgggtgtgct ttgaattatt agtattatct tcagtcctca gtttctttgt gggaaacttt 10800

ES 2 857 702 T3

ttaattagtt gtttaatttt gtaagatggt tagtttagtc aaaattagat aagagaattt 10860
 gaaaatccgt agctacccca aagcaaccta cacataagaa ctattatttt tgtgttttga 10920
 aatcataatt ttattgattt ccagtgtttc cactggtagt ggtttcattg atataggagt 10980
 atcaaaacat cactcattat ttatttcagt ttcatttgat cctagccggt ttgtattaac 11040
 tctctgtgaa gaaattacct cacaaatcta ttgctgtcct tggtaaagga atggagaatt 11100
 aaggctctag atcattagtg gttacactat agtattagaa gtaaaaaaaaa gattatacca 11160
 acaaaataag aacatgttaa tgtacttgta atgaataaac atgaataaag ctcttatgct 11220
 atataggtgc actaaacaat ctactagaat tgtcagcaaa ctacgtatct taatcctgaa 11280
 aggtcccaa accaatgatc taaaattgaa tcaaactttc ttccttgagc ataattactt 11340
 aatgattta ttaaaatagc cagcatttaa aagcttaaaa tgtaaatac ataatgtggt 11400
 atcctagata gcatcccaga acagaaaaag gatattaggg aaaaactgga ggaatggaat 11460
 aaattatgca gtttagttat taataatgta ctaacgtcct tagttatgac gattgtacca 11520
 tggtaatgta agatactaac aatagaggaa accgggtaag gagtatacag taactctata 11580
 ctatctttgc aacttttttg taaattttaa acttctaaaa taaagaacaa atttaaacat 11640
 taaaaagtat caccaggaac atatatcact gtttacagat gaaatactat gtattttcat 11700
 atctaatttc tgatcattga cttcaaatca gaaaagtgaa tgacacctca aaatcaggtt 11760
 ttctgtttac tgaagtctaa gaaaagaaag cataccagct ggagagattc atgtttataa 11820
 agacagattt ataacaacaa aaataaaata tccaagaata aatttaagaa gaagcacttt 11880
 actgagaaac atatgaaaac ctgaacaaat ggagagggat attttgtatt tgaatagaaa 11940
 gacttctggt ttaaagataa ttctctttaa attatttttt gtagaaattt aaggggtaca 12000
 agagcagtg tgtccatgg atatattaca tagtggtgaa gtctgggggt ttagtgtaaa 12060
 ttaatcttta cattttgttt gagcccaata aatgtacca catgattttt atagaaagat 12120
 agtcattoct attaatccaa acttgtcca actttgaatt gaattgaggc agagctagca 12180
 ggtgttcccc acggctgagg catctgaaca ttaagcatat ccctctgaga accagcctgc 12240
 attgatactc tttctaattgt ggacagcatc aagctatgta cgtagttctg tgctcagcaa 12300
 aagccctgac ttctttttgt ttatgtccta gcccataca acaaaatcaa ccaaagaatt 12360
 ttggttggtg atccagtcac ctctgaacat gaactgacat gtcaggctga gggctacccc 12420
 aaggccgaag tcatctggac aagcagtgac catcaagtcc tgagtggtaa gaccaccacc 12480
 accaattcca agagagagga gaagcttttc aatgtgacca gcacactgag aatcaacaca 12540
 acaactaatg agattttcta ctgcactttt aggagattag atcctgagga aaaccataca 12600
 gctgaattgg tcatcccagg taatattctg aatgtgtcca ttaaaatag tctaactgc 12660

ES 2 857 702 T3

tcccctagca	cctagcatga	tgtctgccta	tcatagtc	tcagtgattg	ttgaataaat	12720
gaatgaatga	ataacactat	gtttacaaaa	tatatcctaa	ttcctcacct	ccattcatcc	12780
aaaccatatt	gttacttaat	aaacattcag	cagatattta	tggaatatac	cttttgttcc	12840
atgcattgta	gtactcattg	gatacacata	gaataataag	actcagttca	cactcttcag	12900
gaaacagata	aaaaactaag	aaacaaaca	aaaacaggca	atccaacacc	atgtgggaaa	12960
tgctttcata	gccgggaaac	ctggggaata	cctgagagga	atactcaatt	caggccttgt	13020
ttcaggaatc	caaatcctgg	cacatcagag	ctgcttcctc	ctttccaggg	tggcaggaaa	13080
taaatggaac	atatttttct	atcttatgcc	aaacatgagg	gaccctttct	ccccgggtgc	13140
tctcccaagg	tagtctacaa	tatttcaact	ctagcagtct	gcttagtgca	tagaacatga	13200
ggctgtgtgt	ccctgggcaa	attactagac	ttctgtgtgc	ttcactttcc	ctgtaggatt	13260
ataatctact	gagcaagctt	attgtaaggg	tcagattagc	aacagtgtat	gaaaatgatt	13320
tgagaccatt	gctgcacaa	attcaactat	ttttttttat	ctcactactc	tacagaagta	13380
ggtaggggtg	gagacagagt	ctgatgagag	gctcagaatg	tgaaagaaag	tgaggcgagt	13440
gagcatgata	tttaataata	acacaaagat	attctgagaa	gagctgctca	ctgccccctc	13500
ccccaataca	tgttgatagg	aaaatgccac	gtacttcagc	aaaaacaact	gaaaaattag	13560
atagaaaagt	caatcaatag	gaaaagataa	tccaggacgg	tgttgtgaac	agaaagaggg	13620
ggaaaaaact	ttagaaaatg	atggggatgc	tcttactggg	gtacgagtcc	tcagggtattg	13680
aactggcctt	cagtaaaagc	tagattagtg	ggttcctgcc	atttacaagc	tgttttatga	13740
caacttactt	gttgggtggc	ctacagtaac	tcacctaact	gcactgagtc	tgtttctca	13800
tctgtaaatt	ggggattttt	ttttaaatac	ctggcatgcc	taactcataa	agttgttctg	13860
aaactgaaat	aaaacatacg	tgaacaggca	ttgtaaaactg	taagttacgg	aaaaagctgg	13920
ctggtgttgt	gtctttaaag	tttcacctgg	gtagtcaaag	atggatcatg	ggtctcagtg	13980
gagagctgag	ccaggcagga	gctgactaag	ggtgagaggt	gggagttagc	agcctctgaa	14040
catctgtgta	ccatgggacc	ccctttcctc	ctgcatggta	ccccagacaa	ggagcctagt	14100
aagagatact	aatggcttgt	tgtccagaga	tgttcaaact	gcagagaaag	ataagacaac	14160
aagcattggc	ctccaatcat	gatgacagat	aggaggaggt	gggagctcct	tagcagtgct	14220
ggttggcctt	ccatgttota	ctgtgggcca	tctctgccat	gtactgtagg	ctactagctt	14280
ctatattaaa	gaatgcaaga	ggggccagga	gcggaggctc	atgcctgtaa	tctcagcact	14340
ttgggaggcc	aaggtgggca	gatcacttga	ggtcaggagt	ttgtgaccag	cctggccaac	14400
atggtgaaac	tctgccttta	ctaaaaatat	aaaaattagc	tgggtgtggt	ggtgtgcacc	14460
tgtaatccca	gctactcggg	agactgaggc	acaagaattg	cttgaacctg	ggaggcggaa	14520
gttgcagtga	gccagattg	cgccactgca	ctccaccctg	ggcaacagag	aaagactctg	14580

ES 2 857 702 T3

cctcaaaaaa aaaaaaaaaa agcaagagga agtgaataa tcaaggccgc catttaatag 14640
tgagcagcca ctccatgtgg tactgtgcaa gcacattata aatattagcc tcacaagaaa 14700
tgtattagca tttgtatfff gtacactggg taagtatcct gcccaagacc tcaaaactgg 14760
ttaagggcag cagaatftag ccccagcacc acctftttcaa agcctgggct tctcacactt 14820
ctccatgctg ttcccatttt aacacaggta tctcgccatt ccagccactc aaactfttggc 14880
atttaagaaa attatcctaa agctaaacta aacttcaagg atgaccattc tcttgacccc 14940
ttcccatcaa aatftttatct ttagtcagtt tgtftttcgft ttgtftttgft tttcagaact 15000
acctctggca catcctccaa atgaaaggac tcacttggta attctgggag ccatcttatt 15060
atgccttggg gtagcaactga cattcatcct ccgtfttaaga aaaggtagta tttccttaat 15120
tgcagtggtc tccactgggg gtgaggaagg ggtgagaatt ggatcatggc tgcaaggaaa 15180
cccgacttaa cctctgcaag gtggtgcaaa ggcattccac tgttcaacag caattatatt 15240
gaagctgagt gggatcactg ggtgaagatg aagcgttaagg ggtgaggggc aggagaatgg 15300
gtatggatgg aggtagaaga tgcagtgtca tacagfttttt ttctatcatg aaaataacca 15360
cagacttaca gaagagaaaag agctaaaatg cccgtcattt tcagttgcat tttagtcttg 15420
cattagttgc aaccagctgg tttctgggta ccctaagtaa taaaaatagt tctctgtag 15480
aactgtagta tgtttaccat agagtatfttt gcaaaatfttt tggtagagga tgttacataa 15540
tttgcatgtg ttcattttctc cattttacctg tgggaacaat taaaatccag gaaaatgagt 15600
atattcaaat aatfttctcc catttaagat gagtcagagt aaataattcc tccaatactt 15660
agagaagtat accaagagat ccagtgatgg tatagagttg tctgatgtta aatagggag 15720
tagaatatgg aaggggattc caatagtcgt tgaaaaattc ccataacc cttacatggg 15780
ggaaagtagt gttaactgag agagtagaga taagctgftt ccaaaaatta tattcttaac 15840
aggactgaga tagccagaat ataaggatca agftttcaatg acagtaagat cctgagatgg 15900
agttgatftt cacaagaaa taattgfttgc cagcatgcat tttgaatatt tctctggaaa 15960
aaaagattag ttggcagtag aaatggatag aaatcaatag atattaaaat acctcagaat 16020
ttggttcac cctgggaaaa gatgaaaaat aaaagtgtat actcctcaag aacatctagg 16080
atcaaaagca tgtgccttac actattgaat taattaacct cataagttgg gacctgtgga 16140
ataaggatgt ccaccagact tcttagggat tacaatgftt tcacagaact tgaaatftta 16200
acttgggtca ctgtatggga tgtagagctg tgctatatgg aaataaaaat gatttctftt 16260
tctcaaggga gaatgatgga tgtgaaaaaa tgtggcatcc aagatacaa ctcaaagaag 16320
caaagtggta agaatatcag aaggaattgg gaagtaaaag tcaaaggaaa caaaaagcta 16380
aagcaataac aaagagaaat ccatcagtca taatctcctc tctfttttaa gaatgctgg 16440

ES 2 857 702 T3

tcccccttgc ctcacagcta acacaagaac tcctccaccg tctgaggagg tttaggagca 16500
 ggggaagggga aggagtcagc ttcatttgct aatccttctgt tgccctgcac cctagcagct 16560
 ccttgcagca ggggacaagg atgacttagg tggatggata attaattgat tctaaaatat 16620
 tgtgtgtcag tattgtaata ctatgttaat tgcaccatgc acggtatctc atttaatccc 16680
 ccacccttg ccattaccaa agagagagag agagagagag agagaaatac tagaatttat 16740
 cctcatttta cagtagagaa aacagaggggt caagaagata atgtaaagtg cccaagaaca 16800
 cacagctgat cacaaaaatc aagcttgggg gccattagcc taaccacaga cccttactct 16860
 taaccocatct gcttcaatcc attttgctac aaatgtttac atttataagc agggcagaaa 16920
 aacctcatcc aggttattga actaagaaga aagttatatt aaggtttcta atttttttaa 16980
 tgtagttaga aaccaaactt aacaatgagc ccaagtttaa agcagtctaa ttaacctgga 17040
 caagctcagg caagtttcat tctgtggccc atagcatcat ctgtgttgta aagctaagta 17100
 gcaaagtgtg tttgggtcat gctggggggac aagccatccc aatttgctca ggactgaggg 17160
 gttttccagg atatcatgta aggataattg ggtacaaata taacctgctg ctttctctca 17220
 tttcaaattt atcatttate atatcagcaa ctatgagtta tgttttttat tagatttctt 17280
 gttacttttt cccagacca cttcccatga aattaatata ctattatcac tctccagata 17340
 cacatttgga ggagacgtaa tccagcattg gaacttctga tcttcaagca gggattctca 17400
 acctgtggtt taggggttca tgggggctga gcgtgacaag aggaaggaat gggcccgtgg 17460
 gatgcaggca atgtgggact taaaaggccc aagcactgaa aatggaacct ggcgaaagca 17520
 gaggaggaga atgaagaaag atggagtcaa acagggagcc tggagggaga ccttgatact 17580
 ttcaaagtcc tgaggggctc atcgacgcct gtgacagggg gaaaggatac ttctgaacaa 17640
 ggagcctcca agcaaatcat ccattgctca tcctaggaag acgggttgag aatccctaata 17700
 ttgagggca gttcctgcag aagtgcctt tgcctccact caatgcctca atttgttttc 17760
 tgcagtactg agagtctcag tgttggaaag ggacagtatt tatgtatgag ttttctctat 17820
 ttattttgag tctgtgaggt cttcttctca tgtgagtgtg gttgtgaatg atttcttttg 17880
 aagatatatt gtagtagatg ttacaatttt gtcgccaac taaacttgct gcttaatgat 17940
 ttgctcacat ctagtaaaac atggagtatt tgtaagggtc ttggtctcct ctataactac 18000
 aagtatacat tggagcata aagatcaaac cgttgggtgc ataggatgtc acctttattt 18060
 aaccattaa tactctggtt gacctaatct tattctcaga cctcaagtgt ctgtgcagta 18120
 tctgttccat ttaaatatca gctttacaat tatgtggtag cctacacaca taatctcatt 18180
 tcatogctgt aaccacctg ttgtgataac cactattatt ttacctatcg tacagctgag 18240
 gaagcaaaca gattaagtaa cttgcccaa ccagtaaata gcagacctca gactgccacc 18300
 cactgtcctt ttataatata atttacagct atattttact ttaagcaatt cttttattca 18360

ES 2 857 702 T3

aaaaccattht attaatgtcc ctgtcaatat caatcgctgt gccaggcatt gaatctacag 18420
 atgtgagcaa gacaaaagtac ctgtcctcaa ggagctcata gtataatgag gagattaaca 18480
 agaaaatgta ttattacaat ttagtccagt gtcatagcat aaggatgatg cgaggggaaa 18540
 acccgagcag tgttgccaag aggaggaaat aggccaatgt ggtctgggac ggttgatata 18600
 acttaaacat cttataaatc agagtaattht tcatttacaag agagaggtcg gtacttaaaa 18660
 taaccctgaa aaataaacact ggaattcctt ttctagcatt atatttattc ctgatttgcc 18720
 tttgccatat aatctaatac ttgtttatat agtgtctggg attgtttaac agttctgtct 18780
 tttctattta aatgccacta aattttaaat tcataccttht ccatgattca aaattcaaaa 18840
 gatcccatgg gagatggttg gaaaatctcc acttcatcct ccaagccatt caagtttctc 18900
 ttccagaagc aactgctact gcctttcatt catatgttct tctaaagata gtctacattht 18960
 ggaaatgtat gttaaaagca cgtatthtta aaatthttht cctaaatagt aacacattgt 19020
 atgtctgctg tgtactttgc tathtthtatt tathtthttagtg tttcttatat agcagatgga 19080
 atgaatthtga agttcccagg gctgaggatc catgccttct ttgtttctaa gttatcttht 19140
 ccatagcttht tcattatctt tcatatgatc cagtatatgt taaatatgtc ctacatatac 19200
 atthtagacaa ccaccattht ttaagtattht gctctaggac agagtttgga tttgtthtatg 19260
 tttgctcaaa aggagacca tgggctctcc agggtgcaact gagtcaatct agtcctaaaa 19320
 agcaatctta ttattaactc tgtatgacag aatcatgtct ggaacttht tttctgctt 19380
 tctgtcaagt ataaacttca ctttgatgct gtacttgcaa aatcacattht tctthtctgga 19440
 aattccggca gtgtacctg actgctagct accctgtgcc agaaaagcct cattcgttgt 19500
 gcttgaacct ttgaatgcca ccagctgtca tcactacaca gccctcctaa gaggcttctc 19560
 ggaggthtctg agattcagat gccctgggag atcccagagt ttcctthtccc tcttgccat 19620
 attctggtgt caatgacaag gagtacctg gctthtgccac atgtcaaggc tgaagaaaca 19680
 gtgtctccaa cagagctcct tgtgttatct gthtgtacat gtgcatttht acagtaattht 19740
 gtgtgacagt gthtcttht tgaattacag gcaagaattht tggctgagca aggcacatag 19800
 tctactcagt ctattcctaa gtccctaactc ctcttgtgg tgttgattht gtaaggcact 19860
 ttatcccttht tgtctcatgt ttcatcgtaa atggcatagg cagagatgat acctaattht 19920
 gcatttht gtcacttht gtacctgcat taatthtaata aatattctt atthttht 19980
 ttacttht gta caccagcatg tccatthtct tgtthttht gtgtthtaata aatgtht 20040
 tthtaacatcc cagtggagaa agtht 20064

<210> 2
 <211> 20261
 <212> ADN
 <213> macaca fascicularis

ES 2 857 702 T3

<400> 2

gtaaaatcaa ggtgcgttca gatggtggct tgttgtaa	ttctgtttat	attaataaca	60
taccaa	atgt	ggatttg	120
gaaaactgga ctgacaggtt tca	ctttctg	tttcatttct	180
gacaccaaca ccactcgcta cccaa	actga	aagcttcccc	240
aagtccaatg ccgggcaaac tgg	atttgct	gccttg	300
tccggg	ccgg	gagcagctgg	360
ccagt	cctgc	gctgcttccc	420
gggagc	gttg	ggc	480
ccttagg	acg	gag	540
aaggc	gat	ggg	600
atgcat	ctgg	gctt	660
aaaaata	aat	aag	720
gaata	tag	ctg	780
cttg	ctag	at	840
ctgc	gta	ag	900
cccaa	agg	ag	960
attt	cttag	ca	1020
ataa	ggag	ta	1080
gtag	atg	ctt	1140
ttag	gtt	gga	1200
tggt	ctg	tt	1260
ttgt	ttc	cg	1320
aggc	at	ttt	1380
gttg	ca	aca	1440
taga	ag	cag	1500
caga	ata	act	1560
actg	aga	agg	1620
agat	agg	gct	1680
cccgc	ctcag	gct	1740
ctc	ctact	ttt	1800

ES 2 857 702 T3

gttttttttg agacgagtct cactctgttg cccaagctgg agtgcagtgg tgccatctca 1860
 gctcacggca acctctgcct cctgggttca agtgattctc ctgcctcagc ctccccgagta 1920
 gctgggacta caggcaccca ccaccacgcc cggctaattt ttgtattttt agtagagatg 1980
 gggtttcacc atattggtca ggctgatctc gaactcctga ctgaggtgat ccacctgcct 2040
 cagcctccca aagtgctggg attacaggcg tgagccaccg cgcttgcca cttgactttt 2100
 tctctatctc ttccttctac ccacccacc cttggaagat agagaagtaa tatcagttcc 2160
 atcgtgttat actgggcttc ccccagggac aaaccactt ccccaacctg aatgagccat 2220
 cacttcttcc ccagtttaca tttcattgct ctttgaatgt ctccgttcgg atatgggaat 2280
 tcacatgtgg tcataattct tacctgaaga agactgacgt cttcttctct tagaccaact 2340
 gccctgatgt gaggtttaga ggttaaagaa catgtgtgta tttacatgat ctttgtattc 2400
 tgctttttcg tccctcacta atgacagctg aacccaagg aatagagct gtggaggaga 2460
 gggtttgatg agaaagtagg taaatattgg atctaataca tcactttcca ggaaacctcc 2520
 attacttcta aaaatttcaa ccaaattcgt taaaggacaa gaactccacc agagtagggc 2580
 cataaacatt ggcaaaaatta gttgtaatct atgactagat ttaatgtccc tttgttttat 2640
 tcacatatgg ttataatgct ttgcttggaa ttaggggtat ttttaagttt cttctgccta 2700
 gtaagtgtat ttgtgcttat aatacaataa ttataaaata tcacattaat attttataac 2760
 tgtacagtta actctggccc aaggaaaaga tagtccggta gatgctgcag cctgattttg 2820
 tatctaacc tggcaagagg ataatgactc atgttatttc acttaccctt tttatctttt 2880
 aacatgaagg gctcatatag gtcaataaga aaccagtgat ataacagac caaaaaatga 2940
 tcagatcttt cacattagca aaaaaaata ttttttaaac aataccaac tgggtgaaaa 3000
 tacagtgtaa cagtaccaa tatcaacatg tgtcaagaac cagaaaaatg tttgttttct 3060
 ttgatcagca aactatattg aggaaatcta tctcagggc ctgacctggg gcctggcaca 3120
 cagtaggcac tgaacaaata tttgctgaac acacacatac ttatgatatt tttaaaattg 3180
 gcaacaatcc aataccaat aatagaggaa ttaaatatta tagaactgtt caataagatg 3240
 cttacgaata tcatgcagta agatgggcaa tatttatatc ataagcttaa atgaaacaaa 3300
 tgggtattaa aggtatggta aggttataaa ttacttttta agagattaaa gggaaaagac 3360
 tgaaagatat atactgaaat gctcacagtg gtgacaagggt tccccagcct tggcactatt 3420
 gacattttgg gctatgtctt tgctgtggga ggctggcctg tgctctgcag gaggtttggc 3480
 agcactcttg gtttctacce ctagatagca gtagcaaccc tccctcaacc agcccaattt 3540
 tgacaaccaa aatgtttcc aggcacacc agattctccc tgggtgagag tgatgaaaca 3600
 gtaggtgatt ttccccttct tttctcattt tctgtaattt tgtcacatta cgttaataat 3660
 aaggaaaaaa cataaaaaat agatgaattt attattctac ctgagtttgg atgtttggac 3720

ES 2 857 702 T3

tccctttggg ggttctttcc attatatcac ttggtctgct aaacagtcta tggtttggca 3780
 aggtgaaatg attcatgaaa ttttgttttt attttttacc tgatactaaa agtaaaacat 3840
 tcattcgctt gaaaatttgg acacagaaca ccaaaaaaaaa tccataatct catctctctt 3900
 tttctgtott ttcocttcoct ttttcccttt aaaaacaaga gtgaaaacct accggttctc 3960
 cctccaattt aattcctaaa tataatcact gttaacatct tggacatttc ctgtgtctaa 4020
 acacacatac tcactttttc ttttttttag caaaaagtgg atttctgcta catgtagtgt 4080
 tccgcaactt cctacatggt taaaaaatca gtacatttac atatgctgaa ttcagtcctt 4140
 aatggtatta tattttgtga atataacaaa atttatttaa ccacttagac aatctaagat 4200
 attctcagtt tgctgttatg agcaatgctc ttccctttaca tatacatata tatgtgtgtg 4260
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg ttttagtagg atagatttct aggagagggc 4320
 gaaatgtcat atgacatoca catttacaat tgtaatagga agtatcaaag tgccccctaa 4380
 aaaaaaaaaat tctctccatt agtgtgtgag aaagcctatt tgttcatatc ttcacaaaca 4440
 ctaaataatta gaaatattta caattgtgtt caagctaaga agtgaaaaat ggtatttcat 4500
 atcttataat ttttgttgtg agattgaaca tatttctctat gtttacctgt cacctgtatt 4560
 tcttattctc tgaactatac gttatgacct ttcacttatt ttccctcatgg gttatgtgta 4620
 gtttgtgtag ttgtcttatt gattgttagg agctatttat atattaggaa cattaatctc 4680
 ctgtcttata tgtatgtggc attgattagt tgatcatttg tgagttcatg tctgtataca 4740
 aagattagag aggcagtaag agggaaaact tacctctttc ttatcaaagt ttgtaaatat 4800
 atgtataaca gaagagagag aaaacattaa taaatgctga aataaagtat aaatttttta 4860
 ctccactact tcaacataaa ctacaaaagg agagtgactt ttctttcatg ctgacttcca 4920
 tattccccat gcctaaaata gtgcctagca cagaagaggt gctcaatcag tgtttgctaa 4980
 atgaaagaat tagtaacatt tcaagcagga tgactaaatg aagaatagaa tctaggcaga 5040
 tactctggaa gagtgactgt gagtcattca tggctctggg atgaattagt caaatccagc 5100
 tttctcccct tcccactccc cactgttagt agaataatct gtttattgag agaatagatt 5160
 tataatttag aataagaggg gcagaagagg agattttgaa ggatggcacc tgaaggagga 5220
 ctagcatggc tgagatagtg aagtggaagt cttggaaagc taaagggtaa gatgaaagta 5280
 tttagccgta gggggaaaaa gcattgacag gttggaaatg taaaagtcag attctccttg 5340
 ctttgaaatt ttgtacaggg caggttctac taggtatggt acaatgcaga aaaaacatga 5400
 aatagttgag aggaatttgg tgaaatatta tcttctggc ttcttttgag tgagcagatt 5460
 tttttcaggg cctgtaacta taataaattt gaaacttctc atcttttagt aacttttttc 5520
 acttaagttt atgtggctgt gggcaatgga atgaaggat tgaacttctc attccctgct 5580

ES 2 857 702 T3

gggtttccac aattacaagt caatcatgac tggttattag aagactatth caattagaac 5640
 caccaagtcc cataatgtca tattgtgtgt ttaattatta agtaaagcag tcttcttttt 5700
 gtgttttcca taattagcac attccagaaa gatgaggata tttgctgtct ttatattcac 5760
 gatctactgg catttgtgga atggtaagac accaaatcct tccattaggt tctatatttt 5820
 aaatatttta accatgagtt taaaactaaa atgataatth aaaatgcatg caattttctt 5880
 atagagagaa tattctcttc tttcttctac tttacacaat gacaaagtct ttcttctgct 5940
 ttacacaatg ataaagttcc ctgtgtcatt gtgtaaaaat atagagaata tagacaaatt 6000
 gaaagacaca aaataatcta ttaccatttt cccagggtta actactgaaa atatctgggg 6060
 aaatggcctg tatgtatata tttatttgtt tgttttcaac aaggccagga tctttcaatc 6120
 tttcaatctt ggttgctctg tgacatgcct ttctgatga gaatactcta aggaagaatt 6180
 gtaggataca tggaaaatgt cagggttaaca cagtactggc accaccctgc ggtcctttct 6240
 gaactccata ccaatgtact tcttgccaga aaactgatca aaagtttagg gaagtaaaaa 6300
 gagatgtag aatctacat tccctctatg taggaagcaa ataggtgtcc agtcaaagga 6360
 cattctgggg atgtctacat gaaaccaagt ctctgggtg taagtactcc atctccatat 6420
 aatatttcta cagtaatata tgtttataaa ttgtgggggc aacttgttta gctaatttta 6480
 ttattctggt attgggacac tatgtctctg catgagacat agtgtcccaa aacatatttc 6540
 aagcccattg gataaaatat gtatttagca agttcttaa tataatgata acataactga 6600
 ccagataagg tgatttttaa atgctgtgcc aactttataa atgttttgag gaattttccc 6660
 tttctgaag gttattcttc tttcttttta gcatttactg tcacggttcc caaggaccta 6720
 tatgtgtag agtatggcag caatatgaca attgaatgca aattcccagt agaaaaaaa 6780
 ttagacctga cttcactaat tgtctattgg gaaatggagg ataagaacat tattcaattt 6840
 gtgcatggag aggaagacct gaaggttcag catagtaact acagacagag ggcccagctg 6900
 ttgaaggacc agctctccct gggaaatgct gcacttcgga tcacagatgt gaaattgcag 6960
 gatgcagggg tttaccgctg catgatcagc tatgggtggtg ccgactaaa gcggattacc 7020
 gtgaaagtca atggtaagaa ttattataga tgagaggcct gatctttata gaaaacatat 7080
 tctaagtgtt gaagactttt cattcttata agtccatact tattttcaa cagaatagca 7140
 tagtctcttc attcattcat tcagttcatg aattcattca cgtaagtctc caattagcat 7200
 ttcttgagca cctatatgat agtcattgga aatccagaga caacacagag ccatgttcta 7260
 cggtatgtac agttttccaa aaataattcc tagtctttac ttttttatta taaatgtaat 7320
 acatatactt gcaaagaatt cagatactat ggaagagatc aatgaattg caaaagtgtc 7380
 cctcctccct tcaccactat ctcccatgag ataaccaaga gacactcaa gagagtaacc 7440
 attatttgtg tgtccctcca gaaccttttt tattcaacta ccattttttt attttattag 7500

ES 2 857 702 T3

gtctgtcagt tttccttttt tgagcctctc tatatcaaat gctaataaat atattcagat 7560
 caaaccccccac tgtaagggttc atattaaaaa agacttgaag tctccctatg aagacaaaaa 7620
 ataatacatat taagtgtaaa agaacttatt cttccagtac agtataaact atactcactg 7680
 ggcataatatt catcttgaaa atctatactg atgttgtctt ggggaattga agaggaacta 7740
 ggagtgtcaa ttctgggaa ctgaccaca gttatgtcat caggtcactt gagttcgaag 7800
 ttttgtgttg gcaactagcta agtaaaggaa aacacctctg ctttcattgt tgagtttcat 7860
 agaattgaga gctgaaagga tcccaggcag gagcgactaa tccaaactcc cacaaagaac 7920
 aaaaatcccc cagaggatct tctgttcata tatttcctgc agtggcatcc ctgtcatatc 7980
 ccacaatggc atccctgcca tttggactcc ccttccatat cctggtgaaa ttactcccta 8040
 atagtaagct gaaatctgcc cctctagttg tagttttgga attatttcat ttccatgatg 8100
 accttttaat atttgactag aattaaatca tctccccttg gtatttccat tcctggacta 8160
 actaccatca atctgagggc taacaataca agtagaaaaa gtctacactt gtcattgatc 8220
 actgatcaat gattaatcaa tgatcactga taattataaa ctcaaaaaca aaatcatgta 8280
 gggattaaga gaaatgtatc agttttatgt tgtatttctg gtccctgatt ctggctcaaa 8340
 taatgctact attgtcaaga agatatcact tgtaaagtag atttaatttt cattatattt 8400
 taccatgtgc ttctccattc acggcatttc ttgagatggt gtggtttata ctttcagttt 8460
 ttctccagtc catcagcaaa tatcaggcat ctactgtggt ccaagatatt aaagaaatca 8520
 tcatgactta gcctcatcaa cagcattgct agatctggga tggaaaagaa gagtataatc 8580
 ctggcagtca ggaagaaggc tgcataaagt ataagtttct gcttccaaag aagatctctc 8640
 atcagcctgt agggagtgta tagggagggg acagctgtcc ttgtagtagc aaagggtttt 8700
 attcaggtca tctgggctcc ataatatccc ttgtgtatct gcagtctcct ttgccatgga 8760
 tcaacacaat aggaaatctt ccggcactga tggtttttcc aagggggagt tcttcagga 8820
 gcaaagcaaa tgaccaacca ggtttgagga cctgatttga caattccatt ttgtatttta 8880
 aattagttaa tttgcattct agtcccaatc catcttgtca tttgcagaca gtggtttttg 8940
 ggttgagttg agctatacca aaagtctgaa ccttctgcac ttagaacaag gaaggcaacc 9000
 accaagcttc acttgcactg aggcagtgtc tccaatggaa acgaggtagc tggcttgca 9060
 aagctttcca actcagggaa gtagaactcc tgagtcacct ccatatgcaa ataattcac 9120
 agtactgctg ttgaacttca cttcccatca cagcaaatgt gtggtaacat agctttgcca 9180
 caggagtta ctcacatgg gattttaaag gtgaaacatt tcaaaactga aatttgaag 9240
 aatttagttt tggattcact caattatcat gatcactttg ggtgttattg cacctttcat 9300
 gtttgtgagt ttaaatacca gactctcagg cctctaactt tcaattaaaa gtgtttttct 9360

ES 2 857 702 T3

ttaatcactg aacctaatag tagggaaaac gaaatgttca ttcagacttt caggaccttc 9420
 aatgagatga ggcagctgaa agatcaaagt gttgcatagt tatcccagta aagctatttg 9480
 gatcgtatgg accagatcaa ctgctgtcat tccccaccaa ccccatcttt ccccaaaatt 9540
 cccagccctg ttttaagtgtt ctctgtagca tttatctcta tctagtatat tgtgtagcat 9600
 atcatatcat acttttctat tttgtttatt gtctctctcc tcctagaata taaactccac 9660
 aagcacagag atttgggtct gttttttaat attggtgtat cccagggct tgacgtaaag 9720
 cagagtggta gtatgacaaa agcacacaaa aaaatatttg ttgagtcaat gaatgaatga 9780
 tttcctcaaa taggattagc ctaaaatfff ggaaacatga acagacttgg atatatgaaa 9840
 atttatttcc aaaactgttc atcaggaact gttagcacct tctaaagggc aactgaagc 9900
 agcagtagta aaaggaggag gaggagaagc agctctgcta ctactattat cgagtactac 9960
 tacaactatc gagtactact acaactatcg agtactacta caattagcac ttgcttattc 10020
 tgtgtgttag gtctgtact gaacattctg cctaaattag ttcatttcct cctggaaatg 10080
 actctgtggg gtaggtgctt catcatgtaa gatgagtatt tttcacactt cactgtctct 10140
 gaaatctgag tgtgtcttcc aatgatggaa tctttgattt catgataagt ggtattattc 10200
 ccattttaag gatgaggaaa ctggggcca aagaaattaa gtaatttgcc caaattcacc 10260
 tagcctcgta aatgataaag ctagtcttaa atccaagcag attggctctg aagtctgggc 10320
 cottaataac cacttattgc ctgtatttgc acctctgggtg tatgtatcaa gttatatatt 10380
 ggcttcaaaa ctatcatgac cttttcttga ttttgattgt tcaatattag tatagtgttc 10440
 tagatctagt agaccagggg tctgcaaaaa attttgatta ctcacctcat ctgtaaaaca 10500
 ttttaaactt gtgtgtctgt gcaggcacat ttgtgtgtaa ttataaaaaa tttactatct 10560
 attaatatat aggttgtacc gtaagaaaaa ttgccatttt tgaagagcaa aaaaggttga 10620
 atattaccag tttcatctgg ttcaacctaa tagacatttg tacaanaaca gacattttaa 10680
 gaggatgaaa taaaaattta ataaacaata ttttcaattt ttactaattg tgacgcttca 10740
 ctattgtag ctaatatgtc aaggcatgat ataccttagg gtggaattta tcattaacaa 10800
 aggtggatag tgtcaataat cttgaggttt gtgttttttt atataacact gtgaggtcta 10860
 attaagtact taattgttta caacctcata cagtcgcaa taataagtgt cacttctgct 10920
 gtttctctg gggtgtgctt gaattattag tattatcttc aatcctcagt ttctttgtgg 10980
 aaaacttttt aattagttgt ttaattttgt aagatggta gtttagtcaa aattagataa 11040
 gagaatctga aaatccataa ttaccccaaa gcaaccact cataagaact attatftttg 11100
 tgttttgaaa tcataatfff attgatttcc agtgtttcca ctggtagtgg tttcattgat 11160
 gtaggagtat caaaacatca ctaattattt atttcagttt tgtttgatcc tagctgtttt 11220
 gtgttaactt tgaagaaatt acatcacaga tctattgttg tccttggtaa aggaatggag 11280

ES 2 857 702 T3

agttaaggct ctagatcatt agtggttatg ctgtagtatt aggagtaaaa aaaaagatta 11340
 tatcaacaaa ataagaacat gttaatgtac ttgtaataga taaacatgaa taaagctctt 11400
 atgctatata gatgcactga acaatctact agaattgtca gcaaacggta tcttaatcct 11460
 aaaagggctc caaaccaatg atctaaaatt gaatcaaact ttcttccttg agcataatta 11520
 ttaagtgat ttattaaaat agccagcatt taaaagctta aatataagt atcataatgt 11580
 ggtatcctag atagatocca gaacagagaa aggatattag ggaaaaactg gaggaatgga 11640
 ataaattatg cagtttagtt attaataatg tactaatgtc cttagttatg accattgtac 11700
 catggtaaag taagatacta acaatagagg aaattgggta aggggtatat gtaactctat 11760
 actatctttg caatTTTTTT gtaaatttaa aacttctaaa ataaagaaca aatttgaaca 11820
 ttaaaaagtg tcgccaggaa catgtatcac tgtttacaga tgaaacagta tgtattttta 11880
 tatctaattt ctgatcattg gcttcaaatc agaaaagtga atgacacatc aagatcaggt 11940
 tttctgttta ctaaataaag tctaagaaaa caaagcatac cagctggaga gattcatggt 12000
 tataaagaca gatttataac acaaaaaata aaatatccaa gaataaattt aagaagaaat 12060
 agggcactat gtaaaaagta tagcacttta ctgagaaaca tatgaaaacc tgaatacatg 12120
 gagagaggta ttttatattt gaatagaaag attgctgggt taaagataat tctctttaa 12180
 ttttttttgt agaaatttaa gaggtacaag agcagttttg tcacacggat atattacata 12240
 gtggtgaagt ctggggtttt agtgtaaatt aatctttaca ttttgtttga gcccaataaa 12300
 tgtaccaaca tgatttttat agcaagatag tcattcctat taaccctaac ttgtcccaac 12360
 tttgaactga actgaggcag agctagcagg tgttccccac tgctgaggca tctgaacatt 12420
 aagcgtatcc ctctgagaac cagcctgcat tgatcctctt tctaattgtag acagcatcaa 12480
 gctatatatc tagttctgtg ctgagcaaaa gccctgactt ctttttgctt atgtcctagc 12540
 tccatacaac aaaatcaacc aaagaatttt ggttgtcgat ccagtcacct ctgaacatga 12600
 actaacatgt caggctgagg gctaccccaa ggccgaagtc atttggacaa gcagtgacca 12660
 tcaagtctg agtggtaaga ccaccaccac caattccaag agagaggaga agctttttaa 12720
 tgtgaccagc aactgagaa tcaacacaac agctaattgag attttctact gcatttttag 12780
 gagattagat cctgaggaaa accatacagc tgaattggtc atcccaggta atattctgaa 12840
 tgtgtccatt aaaatatgtc taacactgtc ccctagcacc tagtatgatg tctgcctatc 12900
 atagtcattc agtgtttgtt gaataaatga attaatgaat aacattatat ttacaaaatg 12960
 taccctaatt cctcacttcc attcatccaa atcatattgt tacttaataa acattcacca 13020
 aatatttatt gaatatgcct tttgttccat gcattgtagt actcatttga cacacataga 13080
 ataataagac tcacgttcac actcttcagg aaacagataa aaaacaaatg acaaaacaaa 13140

ES 2 857 702 T3

aaacaggcaa tccaatacca tgtgggaaat gctttcatac catgtgggaa acctggggga 13200
 atacctgaga ggaatattca attcaggcca tgtttcagga atccaaatcc tggcacatca 13260
 gagccgcctc cttcttacta gggtttctgt ggcaggaaat aaatggaacg tatttttcta 13320
 tcttatgcca aacaggaggg accctttctc ccctgtgcct ctccaaggt agtctacaat 13380
 atttcaacgc tagcagtctg tttagtgcac aggacatgag gctgtgtatc cctgggcaaa 13440
 ttgtctacact tctgtgtgct tcactttctc tgtaggatta taacctactg agcaaggtta 13500
 ttgtgggggt caaattagca acagtgtatg aaaatgattt gagaccagtg cctgcacaaa 13560
 ttcaactatt tttttttatc tcactactct atagaagtag gtaggatggg agacagagtc 13620
 tgatgggagg ctcagaatgt gaaagtaagt gaggtgagtg agcatgatat ttcataataa 13680
 cacaaagata ctctgagaag agcttctcac ttccccgcc cccaatagat gttgacagga 13740
 aaatgccatg tacttcagca aaaacagctg aaaaattaga cataaaaagtc aatcaatagg 13800
 aaaagataat ccaggatggg cttgtgaaca gaaagagggg aaaaaaaagt ttagaaaatg 13860
 atgggggatgc tcttactggg gtatgagtc ctcaggtattc aactggcttt cagaaaaagc 13920
 tagactagtg ggttcctgcc atttaaaagc tgttttatga caacttactt gttgggtggc 13980
 ctacagtaac tcacttaact gtgctgagtc tgtttcctca tctgtaaatt ggggattttt 14040
 taaaataact ggcattgccta actcataaag ttgttctgaa actgaaataa aacatatatg 14100
 aacaggcatt gtaaaactgta agttacggaa aaagctggct gttgttgtgt ctttaaagct 14160
 tcacctgggt agttagagat ggatcatggg tctcagtggg gagctgagcc aggcaggagc 14220
 tgactaaggg taagaggtgg gagttagcaa tctctgaaca tctgtgtgcc atgggacccc 14280
 ttttctcct gcattggtacc ccagacaagg agcctagtaa gagatactaa tgacttgttg 14340
 tccagagatg ttcaaactgc agagaaagat aagacaacaa gcattggcct ccaatcatga 14400
 tgacagatag gaggaggtgg gagctcctta gcagtgtgg ttggttttcc atgttctact 14460
 gtgggccatc tctgccatgt actgtaggct actaacttct atattaataa atgcaagagg 14520
 ggccgggagt ggaggctcat gcctgtaatc tcagcacttt gggaggccaa ggtgggcaga 14580
 tcacttgagg tcaggagttt gtaaccagcc tggccaacat ggtgaatctc tgcctctact 14640
 aaaaatacaa aaattagcca gatgtggtgg cgtgcacccg taatcccagc tactcgggaa 14700
 gctgaggcac gagaattgct tgaacctggg aggcggaggt tgcagtgagc caagattgtg 14760
 ccactgccct ccagcctggg caacagagaa agactttgcc tcaaaaataa ataaataaat 14820
 aaataataa ataaataaat aaatggaagt gaaataatca aggccacat ttaatactga 14880
 gtagccactc catgtggtac tgtgctaagc acattataaa atattagcct cacaagaaat 14940
 gtattagcat ttgtattttg tacactgggt aagtatcttg cccaagacct caaaactggt 15000
 taaggggcag cagaatttaa cccagcgcc accttttcaa agtctgggct tcttacactt 15060

ES 2 857 702 T3

ctccatgctg ttcccatttt aacagatgta tctcgccatt ccagccactc aaactttggc 15120
 atttaagaaa attatcctaa agctaaacta aacttcaagg atgactattc tcctgatgac 15180
 cccttcccat caaaatttta tcttttagtca gtttgttttt gttttgtttt gtttttcaga 15240
 actacctctg gcgcttcctc caaatgaaag gactcacttg gtaattctgg gagccatctt 15300
 ttactcctt ggtgtagcac tgacattcat cttctattta agaaaaggta gtatttcctt 15360
 aattgcagtg gtctccactg gggatgagga gggggtgaga attggatcga tcatggctgc 15420
 aaggaaacct gacttaacct ctgcagggtg gtgcaaaggc attccactat tcaacagtaa 15480
 ttatattgaa gctgcatggg atcactgggt gaagatgagg tgtaaggggt gagggacagg 15540
 agaatgggta tggatggagg tagaagatgc agtgtcatac aatttttttc tatcatgaaa 15600
 ataaccacag acttactgta aagaaggagc taaaatgcct gtcattttca gttgcatttt 15660
 agttttgcat tagttgcacc cagctggttt ctgggtactc taagtaataa aaatagttcc 15720
 tctgtagaac tgtagtattt tcaccataga gtattttgta aaattattgg tagaggatgt 15780
 tacataattt gcatgtgttc ctttctccat ttacctgtgg gaacaattaa aatccaggaa 15840
 aatgagtata ttcaaataat ttcctcccat ttatgatgat tcagagtaaa taattcctct 15900
 gatacttaga gaagtatacc aagagatcca gtgattgtat agagttgtct gatgttaaat 15960
 agggaagtag aatatggaag ggaattccaa tagtcgttga aaaattcccc acaaccctt 16020
 acatggggga aagtgggtgtt aactgagata gtagagataa gctgttacca aaaattatgt 16080
 tcttaacagg attgagatag ccagaatata aggatcaagt ttcaatgaca gtaagatcct 16140
 gagatgcagt tgatttgcac aaagaaataa ttgttgccag cttgcatttt gaatatttct 16200
 ctggaaaaag agattagttg gcagtagaaa tgaatagaaa tcaatagata ttaaaatacc 16260
 tcagaatttg attcatctct gggaaaagat gaaaaataaa agtgtatagt cctcaagaaa 16320
 atctgggatc aaaagcatgg gccttaccct attgaattaa ttaacctcag aagttgggaa 16380
 ctgtggaata aggatgtcca ccagacttcc tagggattac aaatgtttca tagaacttga 16440
 aatttaaact tgggtcactg tatgggatgt agagctgtgc tatatggaaa taaaaatgat 16500
 ttctttttct caagggagaa tgatggatat gaaaaaatgt ggcattcgag ttacaaactc 16560
 aaagaagcaa cgtggttaaga atatcagaag gaattgggaa gtagaaggca aaggaaacaa 16620
 aaagctaaag caataacaaa gagaaatcca ttagtcataa tctcctctcc ttttaaagaa 16680
 tgctgggtcc cctttgcctc acaactaata caagaacttc tccaccatct caggaagttt 16740
 agggatggcc ttcaagagta gagagtaggg agcagctctg tggagagagg agaggagcag 16800
 ggaaggggaa ggagtcagct tctctttgct aatctgttgc cctgcaccct agcagctccc 16860
 tgcagcaggg gacaaggttg acttaggtgg atggataatt aattgattct aaaatattgt 16920

ES 2 857 702 T3

gtgtcagtat tgtatattgt aatactatgt taactgcgcc atgcacggta tctcatttaa 16980
 tccccacccc ottgccatta ccaaaaagag agagagaaaa atactagaat tatcctcatt 17040
 ttacagtaga gaaaacagag ggtcaagaag ataaagtaaa gtgcccaaga acacacaact 17100
 gatcacaaat atcaagcttg ggggtccatta gcctaaccac agacccttac tcttaaccca 17160
 tctgcttcaa tccattttgc tacaaatggt tacatttata tgcagggcag aaaagtctca 17220
 tccagtttat tgaactaaga agaaagtatt attaaggtgt ctaatttttt ttaatgtagt 17280
 tagaaaccaa acttaacaat gagcccaagt ttaaagcagt ctaattaact tgacaagctc 17340
 aggcaagttt cattctgtgg cctgtagcat catctgtggt gtaaagctaa gtagcaaatg 17400
 ttatttgggt catcctgggg ggaaagtcac cccaatttgc tcaagactga ggggtttttc 17460
 aggatatcat gtaaggataa ttgggtacaa atataacctg cttctttctc tcatttcaaa 17520
 tttatcattt atcatctcag caactatgag ttatgttttt tattagattt cttgttactt 17580
 tttccccaga ccgctcccca tgaaatat atactattat cactctccag atacacaatt 17640
 ggaggagacg taatccagca ttggaacttc tgatcttcaa gcagggattc tcagcctgtg 17700
 gtttgggggt tcgtcagggc tgagcatgac cagaggaatg aatgggcccg tgggatgcat 17760
 gcagtatggg acttaaaagg cccaagcact gaaaatggaa cctggcgaaa gcagaggagg 17820
 agaatgaaga aaaatggagt tgaacagggg gcgtggaggg agacctgat actttcaaat 17880
 gcctgagggg ctcatcgggt catgtgacag ggagaaagga tacttctgaa caaggagcct 17940
 ccaagcaaat catccactgc tcatcttagg aaaacgggtt gagaatccct aatttgaggg 18000
 tcagttcctg cagaagtgcc ctttgcctcc actcaatgcc tcaatttggt ttctgcgtga 18060
 ctgaggggtcc cagtgttggg acagtattta tgtatgagat tttcctattt attttgagtc 18120
 tgtgaggtct tcttgtcatg ggagtgtggt tgtgaatgat ttcttttgaa gatatattgt 18180
 agtagatggt acaattttgt cgcctaaacta aacttgatgc ttaatgactt gctcacatct 18240
 agtaaaacat ggagtatttg taaggtgctt ggtctcctct ataactaaa gtacacattg 18300
 gaagcataaa gatcaaaccg ttgatttgta taggatgtca cctttattta acccattaat 18360
 actctgattg acttaatctt attctcagac ctcaagtgtc tgtgcagtat ctgttcatt 18420
 taaatatcag ctttataatt atgtggtacc atacacacat aatctccttt catcgctgta 18480
 accaccctgt tgtgatgacc actattattt taccattgt acagctgagg aagcaaacag 18540
 attaagtaac ttgccaaaac cagtaaatag cagagctcag actgccaccc actgtccttt 18600
 tataatacaa tttacagcta tttttactt taagcaattc atttattcaa aaccattta 18660
 ttaagtgcc ttgcaatatc aatcactgta ccaggcattg aatctacaga tgtgagcaag 18720
 agaaagtacc tgtcctcaag gagcttgag tataataagg agattaataa gaaaatatat 18780
 tattacaatc tagtccagt tcatagcata aggatgatgt gaggagaaa gctgagcagt 18840

ES 2 857 702 T3

gttgccaaga ggaggaaata ggccaatgtg gtctgggaca gttgaatgta tttaaacatc 18900
 ttaataatca aagtaatfff catttacaac gagaagtcag tacttaaaat aaccctgaaa 18960
 aataacactg gaattccttt tctagcatta tatttatccc tgatttgcct ttgccataca 19020
 atctaataatgct tgtttatata gtgtctgata ttgtttaaca gttctgtctt ttctattcaa 19080
 atgctattaa attttaaaatt cataccttc catgattcaa aattcaaaag atcccatggg 19140
 agatggtttg aaaatctcca cttcatcctc caagccattc aagtttcctt tccagaagca 19200
 actgctactg ccttttattc atatgttctt ctaaagatag tctacatttg gaaatgtatg 19260
 ttaaaagcat atatttttaa atttttttcc ctaaatagta acacattata tgtctgctgt 19320
 gcactttgct atttttatft attgtagtgt ttcttatgta gcagatggaa tgaatttgaa 19380
 gctcccaagg gtcaggacac atgccttctt tgtttctaag ttatctttcc catagctttt 19440
 cataatcttt catatgattt agtacatggt aatatgtgc tacatataca tttagacaac 19500
 cagcatttgt taagtatttg ctctaggact gagtttggat ttatgtttgc tcaaaaggag 19560
 acccatgggc tctccagggt gcactgagtc aatctagtcc taaaagcaa tcttattatt 19620
 aactctgtat gacagaaatca tatctggaac ttttgttttc tgctttctgt caagtataaa 19680
 cttcactttg atgctgtact tgcaaaatca cattttcttt ctggaaattc cagtagtgta 19740
 ccttgactgc tagttaccct gtgccagaaa agcctcattc gttgtgcttg aaccctttaa 19800
 tgccaccagc tgtcatcact acacaggcct cctaagaggc ttcttgaggg ttttgagatt 19860
 cagatgccct gagagatccc agagtttctt ttccctcttg gccacattct ggtgtcagtg 19920
 acaaggaata ccttcgcttt gccacccgtc aagggtgaag aaacagcgtc tccaacagag 19980
 ctcttgtgt tatctgtttg tacatgtgca tttgtacagt aatttgtgtg acagtgttct 20040
 ttgtgtgaat tacaggcaag aactgtggct gagcaaggca catagtctac tcagtctatt 20100
 cctaactcct ccttttggtg ttggatttgt aaggcattt atcccttttg tctcatgttt 20160
 catcgtaaat ggcataggca gagatgatat ctaattctgc atttgattgt cactttttgt 20220
 acctgcatta atttaataaa atacccttat ttattttggt a 20261

5 <210> 3
 <211> 20340
 <212> ADN
 <213> macaca fascicularis

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1658). . (1881)
 <223> n e s a , c , g o t

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2742). . (2745)
 <223> n e s a , c , g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2747). . (2747)
 5 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2749). . (2749)
 10 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (4764). . (4802)
 15 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8775). . (8778)
 20 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8980). . (8984)
 25 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9161). . (9293)
 30 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9344). . (9348)
 35 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9840). . (9874)
 40 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9958). . (9973)
 45 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10437). . (10452)
 50 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10603). . (10603)
 55 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10830). . (10830)
 60 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10989). . (11006)
 65 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11105) . . (11122)
 <223> n e s a , c , g o t
 5
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (11457) . . (11457)
 <223> n e s a , c , g o t
 10
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (13710) . . (13710)
 <223> n e s a , c , g o t
 15
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (14015) . . (14049)
 <223> n e s a , c , g o t
 20
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (14518) . . (14585)
 <223> n e s a , c , g o t
 25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (14689) . . (14699)
 <223> n e s a , c , g o t
 30
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (14707) . . (14767)
 <223> n e s a , c , g o t
 35
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (14837) . . (14865)
 <223> n e s a , c , g o t
 40
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (15703) . . (15741)
 <223> n e s a , c , g o t
 45
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (17403) . . (17415)
 <223> n e s a , c , g o t
 50
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (19122) . . (19135)
 <223> n e s a , c , g o t
 55
 <400> 3

ctgaaagctt ccccgattcc gccgaaggtc aggaaagtcc aatgccgggc aaactggatt

60

ES 2 857 702 T3

tgctgccttg cgcagaggtg ggcgggaccc cgcctccggg cggggcgcca agttgagcag	120
ctggcaacgcc tcgogaagcc ccagtcctga agccccagtc ctgcgctgct tcccaggget	180
ccgcaccagc cgcgcttctc tctgcctgca ggtagggagc gttgttcctc cgcaggtgcc	240
cacggcccag catctctggc taactcgtg ggcaccttag gacggaggat ctctacaccc	300
tttctttggg atggagagag gaggagggaa agggaaggcg atggtctagg gggcagtaga	360
gccaattacc tgttgggggtt aataagaaca ggcaatgcat ctgggcttcc tccagcgcaa	420
ttcagttttg ctctaaaaat aatttatacc tctaaaaata aataagggtg gtagtatagg	480
ataggtagtc attcttatgc gaccgtgtgt tcagaatata gctctgatgc taggctggaa	540
gtctggacac gggtcctagt ccaccgtcag ctgcttgcta gtaatatgac ttgtgtaagt	600
catcccagct gcagcagata agtaagtctc ttctgcgct aagcacgtcc aggaccctg	660
aacggaatth atttgctctg tccattctga aaacccaaag gagtcctaaa agaggaatgg	720
aggagcctaa gaataaaaaat agtataataa aacatttctt agacagggtg accttggcct	780
atgtcaaagt tcagtcctggg tttgtcttat aacataagga gtaaaagtac cattgttcta	840
cctctttttt taataactga aaaaaaattt actgtagatg cttttctatt aattaaata	900
ccttctaaaa aatgttttta gtgctgcatt cgattaggtt ggataactaa atgaaattaa	960
ttctcactg ttgggtataa aggttattta cagtggttct gtcttagcta ttcactgaac	1020
atcattacat agatatctct ggaatattgc tgattgttcc cgtcaataaa cttagaagtg	1080
taactactta gtcaaagaga ctgaatattt taaaggcatt ttgaagaaaa ctgaaaatgc	1140
tttccagaaa ggatgtatca gttgacaatg atggttgca acagtattta aggagaacta	1200
tgatactctg aagaaaaact tagcctttct cagtagaagc aggtaggcag aggccacatg	1260
acagcagtta gagtgtggtc ttcaaggaag tcacagaaat actgtgggga attgaaaccc	1320
caagtggaaa atgtacaaga gtgtctcagt gtgactgaga aggagggttg gcttgggggtt	1380
taacttaaga attttttctt ttcttttgtg gagatagggc ttttgttatg ttaccaggc	1440
tggtcttgaa ctctagcct caggcgatcc tcccgcctca ggctgcagaa gtctgggat	1500
tactggccgg agccaccatg caggcctctt gctcctactt ttgagaaagg aagcttaacc	1560
tttttttttt gtttgttttt gttttttggt tttttttag acgagtctca ctctgttgcc	1620
caagctggag tgcagtggtg ccatctcagc tcacagcnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1680
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1740
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1800
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	1860
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngactttttc tctatctctt ccttctacce atcctaccct	1920
tggaagatag agaagtaata tcagttccat cgtgttatac tgggcttccc ccagggacaa	1980

ES 2 857 702 T3

acccacttcc ccaacctgaa tgagccatca cttcttcccc agtttacatt tcattgctct 2040
 ttgaatgtct ccgttcggat atgggaattc acatgtggtc ataattctta cctgaagaag 2100
 actgacgtct tcttctctta gaccaactgc cctgatgtga ggtttagagg ttaaagaaca 2160
 tgtgtgtatt tacatgatct ttgtattctg ccttttcgtc cctcactaat gacagctgaa 2220
 cccaaggaa atagagctgt ggaggagagg gtttgatgag aaagtaggta aatattggat 2280
 ctaatccatc atcttccagg aaacctccat tacttctaaa aatttcaacc aaattcgtta 2340
 aaggacaaga actccaccag agtagggcca taaacattgg caaaattagt tgtaatctat 2400
 gactagatth aatgtccctt tgttttattc acatatggth ataatgctth gcttggatt 2460
 aggggtatth taagttttct tctgcctagt aagtgtatth gtgcttataa tacaataatt 2520
 ataaaatata acattaatat ttataactg tacagttaac tctggcccaa ggaaaagata 2580
 gtccggtaga tgctgcagcc tgattttgta tctaaccctg gcaagaggat aatgactcat 2640
 gttatthcac ttacccttht tatctthtaa catgaagggc tcatataggt caataagaaa 2700
 ccagtgatataaacagaccaaaaaatgatc agatctthca cnnnnanana aaaaaaatata 2760
 tthtaaacaa tacccaactg ggtgaaaata caatgtaaca gtaccaata tcaacatgtg 2820
 tcaagaacca gaaaaatgth tgtthtctth gatcagcaac actatthgag gaaatctatc 2880
 ctcagggcct agcctggggc ctggcacaca gtaggcaactg acaaatatt tgctgaacac 2940
 acacatactt atgatattht taaaattggc aacaatccaa tacccaataa tagaggaatt 3000
 aatattata gaactgttca ataagatgct tacgaatata atgcagtaag atgggcaata 3060
 thtatatcat aagctthaat gaaacaaatg ggtatthaaag gtatggtaag gttataaatt 3120
 actththtaag agatthaaagg gaaaagactg aaagatatata actgaaatgc tcacagtggth 3180
 gacaaggthc occagccttg gcactattga cattthgggc tatgtctthg ctgtgggagg 3240
 ctggcctgtg ctctgcagga ggtthggcag cactctthggth ttctaccct agatagcagth 3300
 agcaaccctc cctcaaccag cccaatthtg acaacaaaa atgthtccag gcatcaccag 3360
 attctccctg ggtgagagtg atgaaacagth aggtgattht cccctthctth tctcattthc 3420
 tgtaatthtg tcacattacg ttaataataa ggaaaaaaca taaaaaatag atgaatthata 3480
 tattctacct cagthtggat gthtggactc cctthggggg thctthtccat tatactactt 3540
 ggtctgctaa acagtctatg gthtggcaag gtgaaatgat tcatgaaatt thgtththata 3600
 ththtaacctg atactaaaag taaaacattc atthcgtthga aaatthggac acagaacacc 3660
 aaaaaaatc cataatctca tctctcttht tctgtcttht ccttcccttht thccctthta 3720
 aaacaagagth gaaaacctac cggthtctccc tccaatthta thcctaaata taactactgt 3780
 taacatcttg gacatthtct gtgtctaaac acacatactc actththtctt thththtagca 3840

ES 2 857 702 T3

aaaagtggat ttctgctaca tgtagtgttc cgcaacttcc tacatgttta caaaatcagt 3900
 acatttacat acgctgaatt cagtccttaa tgggtattata ttttgtgaat ataacaaaat 3960
 ttatttaacc acttagacaa tctaagatat tctcagtttg ctggtatgag caatgctcct 4020
 cctttacata tacatatata tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt 4080
 ttagtaggat agatttctag gagagggcga aatgtcatat gacatccaca tttacaattg 4140
 taataggaag tatcaaagtg ccccctaaaa aaaaaaattc ctcccattag tgtgtgagaa 4200
 agcctatttg ttcatatctt cacaaacact aaatattaga aatatttaca attgtgttca 4260
 agctaagaag tgaaaaatgg tatttcatat cttataatth ttggtgtgag attgaacata 4320
 tttcctatgt ttacatgtca cctgtatttc ttattctctg aactatacgt tatgacctt 4380
 cacttatttt cctcatgggt tatgtgtagt ttgtgtagtt gtcttattga ttgttaggag 4440
 ctatttatat attaggaaca ttaatctcct gtcttatatg tatgtggcat tgattagtgt 4500
 atcatttgtg agttcatgtc tgtatacaaa gattagagag gcagtaagag ggaaaactta 4560
 cctctttcct atcaaagttt gtaaataatg gtataacaga agagagagaa aacattaata 4620
 aatgctgaaa taaagtataa atttttactc cactacttca acataaacta caaaaggaga 4680
 gtgacttttc tttcatgctg acttccatat tccccatgcc taaaatagtg cctagcacag 4740
 aagaggtgct caatcagtgt ttgnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 4800
 nnaaatgaag aatagaatct aggcagatac tctggaagag tgactgtgag tcattcatgg 4860
 tcttggtatg aattagtcaa atccagcttt ctccccttcc cactccccac tgttagtaga 4920
 ataactgttt tattgagaga atagatttat aatttagaat aagaggggca gaagaggaga 4980
 ttttgaagga tggcacctga aggaggacta gcatggctga gatagtgaag tggaagtctt 5040
 ggaaagctaa agggtaagat gaaagtattt agccgtaggg ggaaaaagca ttgacaggtt 5100
 ggaaatgtaa aagtcagatt ctcttgcctt tgaaatthtg tacagggcag gttctactag 5160
 gtatgttaca atgcagaaaa aacatgaaat agttgagagg aatttgggtga aatattatct 5220
 tcctggcttc ttttgagtga gcagattttt ttcagggcct gtaactataa taaatttgaa 5280
 acttctcatc ttttagtaac ttttttact taagtttatg tggctgtggg caatggaatg 5340
 aaggtattga acttcctatt ccctgctggg tttccacaat tacaagtcaa tcatgactgg 5400
 ttattagaag actatttcaa ttagaaccac caagtccat aatgtcatat tgtgtgttta 5460
 attattaagt aaagcagtct tctttttgtg ttttccataa ttagcacatt ccagaaagat 5520
 gaggatattt gctgtcttta tattcacgat ctactggcat ttgctgaatg gtaagacacc 5580
 aaatccttcc attaggttct atattthtaa tattthtaacc atgagthtaa aactaaaatg 5640
 ataattthaa atgcatgcaa ttttcttata gagagaatat tctcttcttt cttctacttt 5700
 acacaatgac aaagtctttc ttctgcttta cacaatgata aagctccctg tgtcattgtg 5760

ES 2 857 702 T3

taaaaatata gagaatatag acaaattgaa agacacaaaa taatctatta cccatttccc 5820
 agggttaact actgaaaata tctggggaaa tggcctgtat gtatatattt atttgtttgt 5880
 tttcaacaag gccaggatct ttcaatcttt caatcttggg tgctctgtga catgcctttc 5940
 ctgatgagaa tactctaagg aagaattgta ggatacatgg aaaatgtcag ggtaacacag 6000
 tactggcacc accctgoggt cctttctgaa ctccatacca atgtacttct tgccagaaaa 6060
 ctgatcaaaa gtttagggaa gtaaaaagag atgttagaat ctaccattcc ctctatgtag 6120
 gaagcaaata ggtgtccagt caaaggacat tctggggatg tctacatgaa accaagtctc 6180
 ctggttgtaa gtactccatc tccatataat atttctacag taatatatgt ttataaattg 6240
 tgggggcaac ttgttttagct aattttatta ttctgttatt gggacactat gtctctgcat 6300
 gagacatagt gtcccaaac atatttcaag cccattggat aaaatatgta tttagcaagt 6360
 tcttaaatat aatgataaca taactgacca gataagggtga tttttaaatg ctgtgccaac 6420
 tttataaatg ttttgaggaa ttttcccttt tctgaagggtt attcttcttt ctttttagca 6480
 tttactgtca cggttcccaa ggacctatat gtggtagagt atggcagcaa tatgacaatt 6540
 gaatgcaaat tcccagtaga aaaacaatta gacctgactt cactaattgt ctattgggaa 6600
 atggaggata agaacattat tcaatttgtg catggagagg aagacctgaa ggttcagcat 6660
 agtaactaca gacagagggc ccagctgttg aaggaccagc tctccctggg aaatgctgca 6720
 cttcggatca cagatgtgaa attgcaggat gcagggggtt accgctgcat gatcagctat 6780
 ggtggtgccc actacaagcg gattaccgtg aaagtcaatg gtaagaatta ttatagatga 6840
 gaggcctgat ctttatagaa aacatattct aagtgttgaa gacttttcat tcttataagt 6900
 ccatacttat tttcaaacag aatagcatag tctcttcatt cattcattca gttcatgaat 6960
 tcattcaogt aagtctccaa ttagcatttc ttgagcacct atatgatagt cattggaaat 7020
 ccagagacaa cacagagcca tgttctacgg tatgtacagt tttccaaaa taattcctag 7080
 tctttacttt tttattataa atgtaataca tatacttgca aagaattcag atactatgga 7140
 agagatcaaa tgaattgcaa aagtgtccct cctcccttca ccactatctc ccatgagata 7200
 accaagagac actccaagag agtaaccatt atttgtgtgt ccctccagaa ctttttttat 7260
 tcaactacca tttttttatt ttattaggtc tgtcagtttt ctttttttga gcctctctat 7320
 atcaaatgct aataaatata ttcagatcaa accccactgt aaggttcata ttaaaaaaga 7380
 cttgaagtct ccctatgaag acaaaaaata atcatattaa gtgtaaaaga acttattctt 7440
 ccagtacagt ataaactata ctactgggc atatattcat cttgaaaatc tatactgatg 7500
 ttgtcttggg gaattgaaga ggaactagga gtgtcaattc ctgggaactg acccacagtt 7560
 atgtcatcag gtcacttgag ttcgaagttt tgtgttagca ctagctaagt aaaggaaaac 7620

ES 2 857 702 T3

acctctgctt tcattgttga gtttcataga attgagagct gaaaggatcc caggcaggag 7680
 cgactaatcc aaactcccac aaagaacaaa aatccccagc aggatcttct gttcatatat 7740
 ttcctgcagt ggcacccctg tcatatccca caatggcatc cctgccattt ggactcccct 7800
 tccatatcct gttgaaatta ctccctaata gtaagctgaa atctgcccct ctagttgtag 7860
 ttttgaatt atttcatttc catgatgacc ttttaatatt tgactagaat taaatcatct 7920
 ccccttggtg tttccattcc tggactaact accatcaatc tgagggctaa caatacaagt 7980
 agaaaaagtc tacacttgtc attgatcact gatcaatgat taatcaatga tcaactgataa 8040
 ttataaactc aaaaacaaaa tcatgtaggg attaagagaa atgtatcagt tttatgttgt 8100
 atttctggtc cctgattctg gctcaaataa tgctactatt gtcaagaaga tatcacttgt 8160
 aaagtagatt taattttcat tatattttac catgtgcttc tccattcacg gcatttcttg 8220
 agatgtttg gtttatactt tcagtttttc tccagtccat cagcaaatac caggcatcta 8280
 ctgtgttcca agatattaaa gaaatcatca tgacttagcc tcatcaacag cattgctaga 8340
 tctgggatgg aaaagaagag tataatcctg gcagtcagga agaaggctgc ataaagtata 8400
 agtttctgct tccaaagaag atctctcacc agcctgtagg gagtgtatag ggaggggaca 8460
 gctgtccttg tagtagcaaa gggttttatt caggctcatct gggctccata atatcccttg 8520
 tgatctgca gtctcctttg ccatggatca acacaatagg aatcttccg gcactgatgg 8580
 tttttccaag ggggagttct tcagggagca aagcaaatac ccaaccaggt ttgaggacct 8640
 gatttgacaa ttccattttg tattttaaat tagttaattt gcattctagt cccaatccat 8700
 cttgtcattt gcagacagtg gttttggggg tgagttgagc tataccaaaa gtctgaacct 8760
 tctgcactta gaacnnnaa ggcaaccacc aagcttcact tgcaactgagg cagtgtctcc 8820
 aatggaaaac aggtagctgg cttgcagaag ctttccaact caggggaagta gaactcctga 8880
 gtcacctcca tatgcaaata atttcacagt actgctggtg aacttcactt cccatcacag 8940
 caaatgtgtg gtaacatagc tttgccacag gagtttactn nnnnccatgg gattttaaag 9000
 gtgaaacatt tcaaaaactga aatttgaaag aatttagttt tggattcact caattatcat 9060
 gatcactttg ggtgttattg cacctttcat gtttgtgagt ttaaatacca gactctcagg 9120
 cctctaactt tcaattaaaa gtgtttttct ttaatcactg nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 9180
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 9240
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnctgtcat 9300
 tccccaccaa ccccatcttt ccccaaaatt cccagccctg tttnnnnngt ttttctttaa 9360
 tcaactgaacc taatagtagg gaaaacgaaa tgttcattca gactttcagg accttcaatg 9420
 agatgaggca gctgaaagat caaagtagtt gcatagttat cccagtaaag ctatttggat 9480
 cgtatggacc agatcaactg ctgtcattcc ccaccaacct catctttccc caaattccc 9540

ES 2 857 702 T3

agccctgttt aagtgttctc tgtagcattt atctctatct agtatattgt gtagcatatc 9600
 atatcatact tttctatfff gtttattgtc tctctcctcc tagaatataa actccacaag 9660
 cacagagatt tgggtctggt ttttaatat gttgtatccc cagggcttga cgtaaagcag 9720
 agtggtagta tgacaaaagc acacaaaaaa tatttgttga gtcaatgaat gaatgatttc 9780
 ctcaaatagg attagcctaa aatttgaaa catgaacaga cttggatata tgaaaatttn 9840
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnttctaa agggtagact gaagcagcag 9900
 tagtaaaagg aggaggagga gaagcagctc tgctactact attatcgagt actactannn 9960
 nnnnnnnnnn nnnctacaac tatcgagtac tactacaatt agcacttgct tattctgtgt 10020
 gttaggtcct gtactgaaca ttctgcctaa attagttcat ttctcctgg aatgactct 10080
 gtgggtagg tgcttcatca tgtaagatga gtatffffca cacttactg tctctgaaat 10140
 ctgagtgtgt ctttcaatga tggaatcttt gatttcatga taagtggat tattcccatt 10200
 ttaaggatga ggaaactggg gtccaaagaa attaagtaat ttgcccaaat tcacctagcc 10260
 tcgtaaataa taaagctagt tctaaatcca agcagattgg ctctgaagtc tgggccctta 10320
 ataaccactt attgcctgta tttgcacctc tgggtgtatgt atcaagttat atattggctt 10380
 caaaactatc atgacctttt cttgattttg attgttcaat attagtatag tgttctnnnn 10440
 nnnnnnnnnn nngggtctgc aaaaaatttt gattactcac ctcatctgta aaacatttta 10500
 aacttgtgtg tctgtgcagg cacatttgtg tgtaattata aaaaatttac tatctattaa 10560
 tatatagggt gtaccgtaag aaaaattgcc atffffgaag agncaaaaaa ggttgaatat 10620
 taccagtttc atctggttca acctaataga catttgtaca aaaacagaca ttttaagagg 10680
 atgaaataaa aatttaataa acaatatttt caatttttac taattgtgac gcttactat 10740
 tgttagctaa tatgtcaagg catgatatac cttaggggtg aatttatcat taacaaagg 10800
 ggatagtgtc aataatcttg aggtttgtgn ttttttatat aacctgtga ggtctaatta 10860
 agtacttaat tgtttacaac ctcatacagt cgccaataat aagtgtcact tctgctgttt 10920
 cctctggggt gtgcttgaat tattagtatt atcttcaatc ctgagtttct ttgtggaaaa 10980
 ctttttaann nnnnnnnnnn nnnnnaaga tggtagttt agtcaaaatt agataagaga 11040
 atctgaaaat ccataattac cccaaagcaa cccactcata agaactatta tttttgtgtt 11100
 ttggnnnnnn nnnnnnnnnn nntttccagt gtttccactg gtagtgggtt cattgatgta 11160
 ggagtatcaa aacatcacta attatttatt tcagttttgt ttgatcctag ctgttttgtg 11220
 ttaactttga agaaattaca tcacagatct attgttgtcc ttggtaaagg aatggagagt 11280
 taaggctcta gatcattagt ggttatgctg tagtattagg agtaaaaaaa agattatc 11340
 aacaaaataa gaacatgtta atgtacttgt aatagataaa catgaataaa gctcttatgc 11400

ES 2 857 702 T3

tatatagatg cactgaacaa tctactagaa ttgtcagcaa acggtatctt aatcctnaaa 11460
 aggttcccaa accaatgatc taaaattgaa tcaaactttc ttccttgagc ataattatctt 11520
 aagtgattta ttaaaatagc cagcatttaa aagcttaaaa tataagtatc ataatgtggc 11580
 atcctagata gatcccagaa cagagaaagg atattagga aaaactggag gaatggaata 11640
 aattatgcag tttagttatt aataatgtac taatgtcctt agttatgacc attgtacat 11700
 ggtaaagtaa gatactaaca atagaggaaa ttgggtaagg ggtatatgta actctatact 11760
 atctttgcaa tttttttgta aatttaaaac ttctaaaata aagaacaaat ttgaacatta 11820
 aaaagtgtcg ccaggaacat gtatcactgt ttacagatga aacagtatgt atttttatat 11880
 ctaatttctg atcattggct tcaaactcaga aaagtgaatg acacatcaag atcaggtttt 11940
 ctgtttacta aataaagtct aagaaaacaa agcataccag ctggagagat tcatgtttat 12000
 aaagacagat ttataacaac aaaataaaat atccaagaat aaatttaaga agaaataggg 12060
 cactatgtaa aaagtatagc actttactga gaaacatatg aaaacctgaa tacatggaga 12120
 gaggtatctt atatttgaat agaaagattg ctggtttaaa gataattctc tttaaatctt 12180
 ttttgttaga aatttaagag gtacaagagc agttttgtca cacggatata ttacatagtg 12240
 gtgaagtctg gggttttagt gtaaattaat ctttacattt tgtttgagcc caataaatgt 12300
 accaacatga tttttatagc aagatagtca ttcctattaa cccaaacttg tcccaacttt 12360
 gaactgaact gaggcagagc tagcaggtgt tccccactgc tgaggcatct gaacattaag 12420
 cgtatccctc tgagaaccag cctgcattga tcctctttct aatgtagaca gcatcaagct 12480
 atatatctag ttctgtgctc agcaaaagcc ctgacttctt tttgcttatg tcctagctcc 12540
 atacaacaaa atcaacaaa gaattttggt tgtcgatcca gtcacctctg aacatgaact 12600
 aacatgtcag gctgagggct accccaaggc cgaagtcatt tggacaagca gtgaccatca 12660
 agtcctgagt ggtaagaoca ccaccaccaa ttccaagaga gaggagaagc ttttaaatgt 12720
 gaccagcaca ctgagaatca acacaacagc taatgagatt ttctactgca ttttaggag 12780
 attagatcct gaggaaaacc atacagctga attggtcac caggttaata ttctgaatgt 12840
 gtccattaaa atatgtctaa cactgtcccc tagcacctag tatgatgtct gcctatcata 12900
 gtcattcagt gtttgttgaa taaatgaatt aatgaataac attatattta caaaatgtat 12960
 cctaattcct cacttccatt catccaaatc atattgttac ttaataaaca ttcaccaa 13020
 atttattgaa tatgcctttt gttccatgca ttgtagtact catttgacac acatagaata 13080
 ataagactca cgttcacact cttcaggaaa cagataaaaa acaaatgaac aaacaaaaa 13140
 caggcaatcc aataccatgt gggaaatgct ttcataccat gtgggaaacc tgggggaata 13200
 cctgagagga atattcaatt caggccatgt ttcaggaatc caaatcctgg cacatcagag 13260
 ccgcctcctt cttactaggg tttctgtggc aggaaataaa tggaacgtat ttttctatct 13320

ES 2 857 702 T3

tatgccaaac aggagggacc ctttctcccc tgtgcctctc ccaaggtagt ctacaatatt 13380
tcaacgctag cagtctgttt agtgcacagg acatgaggct gtgtatccct gggcaaattg 13440
ctacacttct gtgtgcttca ctttctctgt aggattataa cctactgagc aaggttattg 13500
tgggggtcaa attagcaaca gtgtatgaaa atgatttgag accagtgctc gcacaaattc 13560
aactatTTTT ttttatctca ctactctata gaagtaggta ggatgggaga cagagtctga 13620
tgggaggctc agaatgtgaa agtaagtgag gtgagtgagc atgatatttc atataaacac 13680
aaagatactc tgagaagagc ttctcacttn ccccgcccc aatagatgtt gacaggaaaa 13740
tgccacgtac ttcagcaaaa acagctgaaa aattagacat aaaagtcaat caataggaaa 13800
agataatcca ggatggtcct gtgaacagaa agaggaaaaa aaaagtttag aaaatgatgg 13860
ggatgctcct actggggat gagtcctcag gtattcaact ggctttcaga aaaagctaga 13920
ctagtgggtt cctgccattt aaaagctggt ttatgacaac ttacttgttg ggtggcctac 13980
agtaactcac ttaactgtgc tgagtctggt tcctnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 14040
nnnnnnnnna tgcctaactc ataaagttgt tctgaaactg aaataaaaca tatatgaaca 14100
ggcattgtaa actgtaagtt acggaaaaag ctggctggtg ttgtgtcttt aaagcttcac 14160
ctgggtagtt agagatggat catgggtctc agtggagagc tgagccaggc aggagctgac 14220
taagggtaa aggtgggaat tagcaatctc tgaacatctg tgtgccatgg gaccctttt 14280
cctcctgcat ggtaccccag acaaggagcc tagtaagaga tactaatgac ttgttgcca 14340
gagatgttca aactgcagag aaagataaga caacaagcat tggcctcaa tcatgatgac 14400
agatagagga ggtgggagct ccttagcagt gctggttggt tttccatggt ctactgtggg 14460
ccatctctgc catgtactgt aggctactaa cttctatatt aaaaaatgca agagggggnn 14520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 14580
nnnntcagg agtttgtaac cagcctggcc aacatggtga atctctgcct ctactaaaaa 14640
tacaaaaatt agccagatgt ggtggcgtgc acccgtaatc ccagctacnn nnnnnnnna 14700
ggcacgnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 14760
nnnnnnnagc atgggcaaca gagaaagact ttgcctcaa aataaataa aaataaataa 14820
ataaataaat aaataannnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnncattt aactactgagt 14880
agccactcca tgtggtactg tgctaagcac attataaaat attagcctca caagaaatgt 14940
attagcattt gtatTTTgta cactggttaa gtatcttgcc caagacctca aaactggtta 15000
aggggcagca gaatttaacc ccagcgccac ctttcaaag tctgggcttc ttacacttct 15060
ccatgctggt ccatttttaa cagatgtatc tcgccattcc agccactcaa actttggcat 15120
ttaagaaaat taccctaaag ctaaactaaa cttcaaggat gactattctc ctcatgacce 15180

ES 2 857 702 T3

ctcccatca aaatthttatc tttagtcagt ttgtttttgt tttgtttttgt ttttcagaac 15240
 tacctctggc gcttcctcca aatgaaagga ctcaacttggg aattctggga gccatctttt 15300
 tactccttgg tgtagcactg acattcatct tctatttaag aaaaggtagt atttccttaa 15360
 ttgcagtggt ctccactggg gatgaggagg ggggtgagaat tggatcgatc atggctgcaa 15420
 ggaaacctga cttaacctct gcaggggtggg gcaaaggcat tccactattc aacagtaatt 15480
 atattgaagc tgcattgggat cactgggtga agatgggggtg taaggggtga gggacaggag 15540
 aatgggtatg gatggaggta gaagatgcag tgtcatacaa tttttttcta tcatgaaaat 15600
 aaccacagac ttactgtaaa gaaggagcta aaatgcctgt cattttcagt tgcattttag 15660
 ttttgcatta gttgcacca gctggtttct ggggtactcta acnnnnnnnn nnnnnnnnnn 15720
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nccatagagt attttgtaaa attattggca gaggatgtac 15780
 ataatttgca tgtgttcctt tctccattta cctgtgggaa caattaaaat ccaggaaaat 15840
 gagtatattc aaataatttc ctcccattta tgatgattca gagtaaataa ttctctgat 15900
 acttagagaa gtataccaag agatccagtg attgtataga gttgtctgat gttaaatagg 15960
 gaagtagaat atggaaggga ttccaatagt cgttgaaaaa ttccccacaa cccttacat 16020
 gggggaaagt ggtgttaact gagatagtag agataagctg ttaccaaaaa ttatgttctt 16080
 aacaggattg agatagccag aatataagga tcaagtttca atgacagtaa gatcctgaga 16140
 tgcagttgat ttgcacaaag aaataattgt tgccagcttg cattttgaaat atttctctgg 16200
 aaaaagagat tagttggcag tagaaatgaa tagaaatcaa tagatattaa aatacctcag 16260
 aatttgattc atctctggga aaagatgaaa aataaaagtg tatagtcctc aagaaaatct 16320
 gggatcaaaa gcatgggcct taccctattg aattaattaa cctcagaagt tgggaactgt 16380
 ggaataagga tgtccaccag acttcctagg gattacaaat gtttcataga acttgaaatt 16440
 taaacttggg tcaactgtatg ggatgtagag ctgtgctata tggaaataaa aatgatttct 16500
 ttttctcaag ggagaatgat ggatagaaa aaatgtggca ttcgagttac aaactcaaag 16560
 aagcaacgtg gtaagaatat cagaaggaat tgggaagttag aaggcaaagg aaacaaaaag 16620
 ctaaagcaat aacaaagaga aatccattag tcataatctc ctctcctttt aaagaatgct 16680
 ggttcccctt tgccctcacia ctaatacaag aacttctcca ccatctcagg aagtttaggg 16740
 atggccttca agagtagaga gtagggagca gctctgtgga gagaggagag gagcagggaa 16800
 ggggaaggag tcagcttctc tttgctaatc tgttgccctg caccctagca gctccctgca 16860
 gcaggggaca aggttgactt aggtggatgg ataattaatt gattctaaaa tattgtgtgt 16920
 cagtattgta tattgtaata ctatgttaac tgcgccatgc acggtatctc atttaatccc 16980
 ccacccttg ccattaccaa aaagagagag agaaaaatac tagaattatc ctcatthttac 17040
 agtagagaaa acagaggggtc aagaagataa agtaaagtgc ccaagaacac acaactgatc 17100

ES 2 857 702 T3

acaaatatca agcttgggggt ccattagcct aaccacagac cttactctt aacccatctg 17160
 cttcaatcca ttttgctaca aatgtttaca ttatatgcag ggcagaaaag tctcatccag 17220
 tttattgaac taagaagaaa gttatattaa ggtgtctaata tttttttaat gtagttagaa 17280
 accaaactta acaatgagcc caagttttaa gcagtctaata taacttgaca agctcaggca 17340
 agtttcattc tgtggcctgt agcatcatct gtgttgtaaa gctaagtagc aaatgttatt 17400
 tgnnnnnnnn nnnnnggtca tcctgggggg aaagtcattc caatttgctc aagactgagg 17460
 ggtttttcag gatatcatgt aaggataatt ggttacaata ataacctgct tctttctctc 17520
 atttcaaatt tatcatttat catctcagca actatgagtt atgtttttta ttagatttct 17580
 tgttactttt tcccagacc gctcccatg aaattaatat actattatca ctctccagat 17640
 acacaattgg aggagacgta atccagcatt ggaacttctg atcttcaagc aggattctc 17700
 agcctgtggg ttggggggtc gtcagggctg agcatgacca gaggaatgaa tgggccctg 17760
 ggatgcatgc agtatgggac ttaaaaggcc caagcactga aaatggaacc tggcgaaagc 17820
 agaggaggag aatgaagaaa aatggagttg aacagggagc gtggaggag accttgatac 17880
 tttcaaatgc ctgaggggct catcggtgca tgtgacaggg agaaaggata cttctgaaca 17940
 aggagcctcc aagcaaatca tccactgctc atcttaggaa aacggggtga gaatccctaa 18000
 tttgagggtc agttcctgca gaagtgcctt ttgcctccac tcaatgcctc aatttgtttt 18060
 ctgctgact gagggtccca gtgttggaa agtatttatg tatgagattt tcctatttat 18120
 tttgagtctg tgaggtcttc ttgtcatggg agtgtgggtg tgaatgattt cttttgaaga 18180
 tatattgtag tagatgttac aattttgtcg ccaaactaaa cttgatgctt aatgacttgc 18240
 tcacatctag taaaacatgg agtatttgta aggtgcttgg tctcctctat aactacaagt 18300
 acacattgga agcataaaga tcaaaccgtt gatttgtata ggatgtcacc tttatttaac 18360
 ccattaatac tctgattgac ttaatcttat tctcagacct caagtgtctg tgcagtatct 18420
 gttocattta aatatacagct ttataattat gtggtacat acacacataa tctcctttca 18480
 tcgctgtaac caccctgttg tgatgaccac tattatttta cccattgtac agctgaggaa 18540
 gcaaacagat taagtaactt gccaaaacca gtaaatagca gagctcagac tgccaccac 18600
 tgtcctttta taatacaatt tacagctata tttacttta agcaattcat ttattcaaaa 18660
 cccatttatt aagtgcctt gcaatatcaa tcaactgtacc aggcattgaa tctacagatg 18720
 tgagcaagag aaagtacctg tcctcaagga gcttgagta taataaggag attaataaga 18780
 aaatatatta ttacaatcta gtccagtgtc atagcataag gatgatgtga ggagaaaagc 18840
 tgagcagtgt tgccaagagg aggaaatagg ccaatgtggc ctgggacagt tgaatgtatt 18900
 taaacatctt aataatcaaa gtaattttca tttacaaaga gaagtcagta cttaaaataa 18960

ES 2 857 702 T3

ccctgaaaaa taacactgga attccttttc tagcattata tttatccctg atttgccttt 19020
gccatacaat ctaatgcttg tttatatagt gtctgatatt gttaaacagt tctgtctttt 19080
ctattcaatg ctattaattt taaattcata cctttccatg annnnnnnnn nnnnngatcc 19140
catgggagat ggtttgaaaa tctccacttc atcctccaag ccattcaagt ttcctttcca 19200
gaagcaactg ctactgcctt ttattcatat gttcttctaa agatagtcta catttgghaaa 19260
tgtatgttaa aagcatatat ttttaaattt ttttccctaa atagtaacac atttatatgtc 19320
tgctgtgcac tttgctattt ttatttattg tagtgtttct tatgtagcag atggaatgaa 19380
tttgaagctc ccaaagggtca ggacacatgc cttctttggt tctaagttat ctttcccata 19440
gcttttcata atctttcata tgatttagta catgttaa atgtgctaca tatacattta 19500
gacaaccagc atttgtaag tatttgctct aggactgagt ttggatttat gtttgcctca 19560
aaggagacc atgggctctc cagggtgcac tgagtcaatc tagtcctaaa aagcaatctt 19620
attattaact ctgtatgaca gaatcatatc tggaaactttt gttttctgct ttctgtcaag 19680
tataaacttc actttgatgc tgtacttgca aatcacatt ttctttctgg aaattccagt 19740
agtgtacott gactgctagt taccctgtgc cagaaaagcc tcattcgttg tgcttgaacc 19800
ctttaatgcc accagctgtc atcactacac aggcctccta agaggcttcc tggaggtttt 19860
gagattcaga tgccctgaga gatcccagag tttcctttcc ctcttggcca cattctgggtg 19920
tcagtgacaa ggaatacctt cgctttgcca cccgtcaagg ttgaagaaac agcgtctcca 19980
acagagctcc ttgtgttatc tgtttgtaca tgtgcatttg tacagtaatt tgtgtgacag 20040
tgttctttgt gtgaattaca ggcaagaact gtggctgagc aaggcacata gtctactcag 20100
tctattccta actcctcctt ttggtgttg atttgtaagg cactttatcc cttttgtctc 20160
atgtttcatc gtaaattgca taggcagaga tgatatctaa ttctgcattt gattgtcact 20220
ttttgtacct gcattaattt aataaaatat ccttatttat tttgttactt ggtacaccag 20280
catgtccatt ttcttgttta ttttgtgttt cataaaatgc ttagtttaac atcccgggtg 20340

<210> 4
<211> 20641
5 <212> ADN
<213> mus musculus

<400> 4

gcctcatgcc aggctgcact tgcacgtcgc gggccagtct cctcgcctgc aggtaagggga 60
gcatcttctc gcggaatccg ctgacagggc actttaaaga gccagaatcc ctgaccttt 120
ttaggacgga gaagggaacc ggtttcctgg gaaagttaag aactcagaat ccgcagtttt 180
gtgtgtttat ggatcttgtg ggtaggtagc tgggtcagaa gagatgaatt aattggctct 240
10 agcgcgactt gactgtttgc tagcaatgac tgggtctttc cacttgaagc atctccggag 300

ES 2 857 702 T3

gtcccttccct ctgtcgaggt ctaggatgct ggagcttaag attttcattc tatctgccca 360
 gagaacctaa aggatttttg gaagaaaatg tcccaaacag ttcttagata cagtgcacta 420
 ggctatgtta aagtttaggt tggggttgtc ataagaggtg aaagtacaat attctatctt 480
 tttttaaaaa taaattatta caggtgcttt cctatgaatt acttagccag ttttttttta 540
 attgctatat tccattgtgc tgggttatta aagggcatca ctctcccact gaggaatgca 600
 caggtagta atagtgccct actagctcag tcatccactg accatctgtg tatgtgactg 660
 tctggaatat ggctaggtat ttcattttaga taaactctta tatgtataag tacttcatta 720
 tgtttgagtg tctgaaaggc ctttgtgtag aaaaaaaaaa aacaacaacc tgagaataca 780
 ttccagaaag tatccgcagc tgatgatgat agtgaccaag cgggtgttaa ggagaacttt 840
 atacagggaa aatattcacc tttcccagct gagcatcata gataggaaga catgatagtg 900
 gttatatgct gctctaagga gggatggaga agggatggat ttgagcacag ggttcaggat 960
 catttgatag aatttgaaaa ctgggtaaat tttcactctt ttgagaaagg aagtttgcct 1020
 ctgcttcccc tccccgcccc aggcactctt cccccccca tcccccccg tgccccccc 1080
 ccccatggga agataaagaa gtggcgttcc aagatcttca tctggacttc ccctgggaca 1140
 aacctatttc cccatcttga atgagcgtca cttctttact ttaaactctg ttctgtgaaa 1200
 ggctctcagc tcttgtctgg gaatttgtga aaggttacag tttcttgccg gagggagggg 1260
 gaaggtgacc ctggactctt agcccatgta agaggtgcag gtttagaggt caaaggccat 1320
 gctgatttac atgggtccctg aatttcccct tttgatctac tgctcacacc tgcaccctga 1380
 gagccagggg ggggaggata tgatactgaa gaaggtgact atcagacca acccatcacc 1440
 tttcagactt tatactaagc tttaaagcag actcataagc aatagataac tgttccaact 1500
 gagtctgcca tcaacgtagg aaaaattagg tacagtcttc agtggatata atgtacctca 1560
 ttgtgactgt ctagtaactog gcttggccat ttctcccagg gcctcattgc aacagtcact 1620
 gtgtcctcac aggcctggat gtcacacctg ctcatctgct tgggcagatg aactggagag 1680
 atatgattaa taatgagtca tttgattttg ctctttttgt aaatgtcctt ggtttggttt 1740
 ggtttgttta ttttttgttt tgttggtggt gtttgttttt attttcatgc tcttggtggt 1800
 gtttgagaca gagtctcact atgtagccca ggctagcctc tccccccagt ctctcagatg 1860
 ctgttgcata tgcccttttc taacatcaat gattcataat aatcagcaag aaggctatga 1920
 ccttaacagt caaataaagt aatcaggtaa ttattgagag ctaaataatt atttaacaa 1980
 atcaagttgc atttttcaag aattgaatgg ggggatctaa aaagtaatgt ttgtgctgca 2040
 caaagatgta gtggtatcag ttgccatagt ctttctccct agatccgcag atctccttag 2100
 ggaaatctat aattcaagcc taaacttggg cctggtagac aactggtagt cgcccaaaca 2160
 ttggccaagc acacacatat ttgtgactct gaaaaaggg acaacacata acagcaaagg 2220

ES 2 857 702 T3

cgctccgtgt taggggcctg ttaaatacaa gacttgggga aattatgcca taatcttaca 2280
 ttttaaaaat ggctattaca tgtgtgagac aacgggggct ggagagatac ctgagaggta 2340
 ctaggcacac atatggcaag cagatgtaca agcaggcaaa acattcttaa aaaacaaaaa 2400
 caaaacccca aaacagatth ctttctatat tatttatatg gggttctgcc tgcgtgtaca 2460
 cctgaagggc agaggagagc accaggctctc atagggtggtt ggttgtaagc taccatatgg 2520
 ttgctaggaa ttaaactcag gactttggta agagcagcca gtgctcttaa cctctgagcc 2580
 atccctccag tcccagacaa aacactctta cacataaaat aatcaatct ttaaaagtgt 2640
 agaggaaaat ggctgaacag aaactattga cagacatgct gagagtggtc accgthtctc 2700
 cagcttgga ctggtggtgc tgtaggccat ctgagtgtct gtcaccttgg ggcggggcgg 2760
 ggggcgggag ggggggaagg cggcagggca gggcttggc agcatctcgg gcctctattt 2820
 catcacatca gtaacagctc tccttctcc caagcaagct ttggcaacca aataaatatg 2880
 ttagccaata ttaccaaacg gtccttagag gagaatgtgt gtaatgtgcc tacattcgtt 2940
 tttataacaa caccaacaat atccaacat aaaaataaac tgaaatggtc actctacctc 3000
 agtgacaacg tctgagctcc gtttcagggt ccctcacaag aaattcgata ggtgtaatga 3060
 tttatthtct ctaataagta aatgattat tcactcattt gaaaattgga cacacacaca 3120
 aaaaaatgaa gaaaaaattt gctatttcat ctctccttht ctatctctth ccctthaaaa 3180
 aaagtataaa tgtgggctaa agagatggct cagcagthaa gagcactggc tgctcttccg 3240
 gaggtactga gttcaaactg caccaaccac atgggtggctc acaacctct gtaatgggat 3300
 ctgatgccct cttctggtgt gtctagagac agtgacagtg tactcacata cataaaataa 3360
 gtaaaaaaaa aaaaaacaaa actthththt aagtataaat gtgtaagaac ttacctgtct 3420
 tccctataaa agccacaatt acctthgcag ataactactg tcaggcagtg tcttcaagag 3480
 aagtggggtt gttctacgac acaagaatat ththgtht atactacct ctaagctct 3540
 tctacttct ctgcaaactc atcccctgtg catatactga aatctatccg tcacggtatt 3600
 ttgagtatac acagttatcc gtcacggtat thhgagtata cacagththt ttagctaata 3660
 catggggtat ttcaagtctg ggactgthgt tggctgtgtc atctctgth catatgactt 3720
 ataththtct agatgaattt ccaagacagg aatagagaga tcatacgaca tgcacagtht 3780
 aagththt aagattacaaa attgacctt aagaagctat acaaththc atcctthcca 3840
 ggaaaggthc agaaatccct gtatctthc thaatgctacc tatgaggagt ctgthathth 3900
 ggtagagcag aaggthcaaa thggtatcaca gatcctccat ggactthctt atcgagagcg 3960
 thctthtccg ththattgat tathctthc gctatgtgag actctcatcc gtctthctct 4020
 tgaccgatgt atagththct cactgagthc agaggctagg atgcagaagc cgtcctcgtc 4080

ES 2 857 702 T3

agctttatac acctttcaga ttgactgtga atgagcacac aggtcagaga gacggtaagg 4140
 gaagacctac tctcccatga acgttgtaaa catgcgaata acacagaagc agaaaatgta 4200
 aactattaga ctggctggaa tgtagcgctc acctttgagc ccactccttt agacaccggg 4260
 ttcattggaag aatggctcct gtttcccacc tgctgcttca gcagtgcccc aaatagtgcc 4320
 agattcagag gagatactca gtgtttgccg agtgaattag gaaagtgttc agcggagggg 4380
 aactagcat tcagacatcc agaccttaga gtaaccgggc cagatggaag tctccttcc 4440
 tcccatagct gttaccactg tactgtcttt actggggaaa agatttatca tgtggaatag 4500
 gtgcgaggca gaggtgagat tttaatgggg aggaagcatt gaaaagtga agtgaaaatt 4560
 ggatgctctt tgctttgaag ctttgcctaa agcaggtttt agctttcaa tacgtttcaa 4620
 tgttgaaaga acgcatgata catatggagg ggggcctggg gggggctcct ggctgagttt 4680
 gaatgtacat taacaatctg gggggctaata aactcaatgt aaagctgctg atcccatcat 4740
 actgacttct ttccacttgg ttctacatgg ctttgagtta caaaatgaaa gcattgaatt 4800
 ttgaactggt cagctgtggt tccacacttg caaatcgggt gttggccagc cctcagaatt 4860
 gcttcagtta cagctggctc gtctgtcttt tccagactgg cttttagggc ttatgtatat 4920
 atgagaagga cacatttact agtgtctcct tgctctgcta ttgaaattaa gcagacctct 4980
 ctgtgtttcc cgttactaga tagttcccaa aacatgagga tatttgctgg cattatattc 5040
 acagcctgct gtcacttgc acggggtaag tcaccaaata ttttcagtgg gttctatatt 5100
 ttcaatattt tagctatgaa ttaaaaatgg aagtaatttg tggggtgtgt atgtgtgtgt 5160
 atatgtgtgt gtagaggggg gtctgtgtgt atgtgcagtt gctaggcaca cataaagcgt 5220
 tcataggaca acctagagct tagtcctcac cttctacctt gtttgagaca aggtctctta 5280
 tttgtgttac attgctgagt cctgtagtcc ggctagctca gaacctcctg ggggctctcc 5340
 tgtctccacc tcccagtcca ctgagattgt aggcacatgc tactgcacct ggcttctacc 5400
 tggctctctg ggatttgaac ttgggtccat gggctacaca gcaagtcggt tacttactgg 5460
 gcaatcactc catcccctaa gataattata aggaatatac cttgcttacc caaacacatt 5520
 ctcatctctc tttgccataa ataagttact tggcaaatat attgtatgta tttttaataa 5580
 ataaataaaa tcttaaaaat aaataaaatt atttgtgaag acaaaaaaaaa taagttactt 5640
 ggaaaggatg aaggaaaata ctggagcttt ggggtgtggt tagtagtaga acacttggct 5700
 gatgtaaaaa aaaagcccta ggtgcaatcc caacaccaga acaaatgaa ggaatgaaca 5760
 acaaccgccc ccacccccca ggggatgaat ataaaaatat caggtaatac agaactaaca 5820
 ggtgatcogt ttoccatgaa taactactga acattcccag ggaggtggcc cactgataat 5880
 atatTTTTat ttattggttc cttttaaaca agactgggaa tatattatct agcttgcac 5940
 accaccacca cccccaccc cggcccatg aagttatttc aaagaagaat tttagtgttc 6000

ES 2 857 702 T3

atgtgattcc ctaaataaaa tgatagtaac cttttaccca ggttttcaga tgtgtttggg 6060
ggagttttct gtcttctgag ggctggctct ctttcctttt cagcgtttac tatcacggct 6120
ccaaaggact tgtacgtggg ggagtatggc agcaacgtca cgatggagtg cagattccct 6180
gtagaacggg agctggacct gcttgcggtta gtggtgtact gggaaaagga agatgagcaa 6240
gtgattcagt ttgtggcagg agaggaggac cttaagcctc agcacagcaa cttcaggggg 6300
agagcctcgc tgccaaagga ccagcttttg aagggaatg ctgcccttca gatcacagac 6360
gtcaagctgc aggacgcagg cgtttactgc tgcataatca gctacgggtg tgcggactac 6420
aagogaatca cgctgaaagt caatggtaag aattaccctg gatggggaag gcttcatccg 6480
tatttaaaac agctccctaa tgttgagagc tcttcattct tgagagtctg cacgcacttc 6540
tcacagaaca acagcagcct gttcttctcg ctcgtttggt cattcgttcg ttcacacact 6600
tcaccagtga aaaagcctag cactgtgtgt ttgatagtaa cttgagattc agtaccagat 6660
aatactcagc catgctttgc agtcagtacc atgatcttgc aaaggtgaaa tgccaggtgt 6720
ttgtttctta tcataaatgc aatatataat atattacata gatgtataga tataactgtg 6780
taacatgcaa taagatataa tatgcatata tttcatataa cataatgtat aatatataat 6840
gtataataat atatactaca atatatagtt atatgcatag ttatatattg catttatgat 6900
aaaaagcaaa cacctggcat ttcacttttg caagcttttt gaattacttg taaatatata 6960
tacaatgcaa catacataca cacacatggt tttttacaag taatttgaat gtcattgaaa 7020
gaaatagaat cataaaaatg tccctcctcc ctaactacca tcttctaagc ataaatatac 7080
agtaactact atttgtacat ccctccatga ctttttgatt ggattactgt ttatatttaa 7140
tctatcaggc ttagcacatt ttctttcctt tgaatacctc catacaaat tcaatgtgtg 7200
tttatatata tatgtatata tatagttata tcatatcata tatcatataa agttttatat 7260
atgtatacat atataaacac acatatctac acatacatac acatttttta tatatataca 7320
caatatataa tgtatatgtg tgtgtgtgtg catatacctc tataatctatc tatctatcta 7380
tctatctatc tatctatota tctatctatc tatagcttct actgtaaggg tcacttttta 7440
aaaaattaag gttaatctat gaaggatgag aagtgaagat ctttaagtga gaagaagccg 7500
ttcttcacac gagatggtag aggctacact cagcaggcat gcattcattt tcagggcctg 7560
catctctggg agtgctgagg aggaactatg agtgtaagtt cctgggtaac gagccacaga 7620
aatgtcatca ggtcccttga gttcacgggt ctgggttggg actaactaag ggaaggaaaa 7680
caccttgcta accaccctg ctttactgt tgggttgcac agacctgaga gcttactca 7740
tcgcaggcgt gcacacagcc agcccagttg cccaccagga ctggaaatcc ccaaggctct 7800
cctcttcaca tacctcccac agtgggtgtc ctcgaatcag gtccctttcg tggctcgcgg 7860

ES 2 857 702 T3

aaacttcacc ttgatggaca ctgagccgaa ccccgctctc tccaggcaga cgttgcagat 7920
ggtctgcctg ctcccttttcg gttttcataa taactttaaa actatattggc tagaatcaga 7980
tagtctcctt cgatcttttt actcctaaac tagtgtgaag ctcaatatta tacataggaa 8040
aaattcacat tcctcataag ggatcacggc agttattaac gcaatcttat gtagagatta 8100
ggaaaaatgt gtccattcga cagtttatta atgggtctgt gatgggtggg cgcttagagc 8160
ttatgaagat gccacttgcc ttatttcggg gcttggtctt aacttcatt accttttact 8220
tacaattctt catttgtgac actcatgaaa ggagactcgg gatatggttg ttaatatctt 8280
gagcagctgt tagtacatca gcaaatatga ggctcctggt tggttccaag atttttaaag 8340
acattgtgaa gctggaaggc catgagcagt caaagttgct ggacctgggg cactggaagg 8400
agctcaaggc gggcagtcag gaagaaggga gcagggtgta agcctctgtg acaagaggtc 8460
tctcatggct tgttaggagt aggtgactct ggtaaggagg aatttactct agattatgtg 8520
ctcagtgata tctctgatac caaagacaat cttttggagc gcacggcttc tccacggagg 8580
gacctgtgat gcggaacaagc tggatccaa gcagtcttga aggcctgctt gactatattg 8640
ttttcttaca gaaatcacta cgtcgatatt ttactcccag ttcaccttgc cattgcatg 8700
cacgttagct ggtctaggcc aagagtctga accttggttg tggctcaaat ctgtaatctc 8760
agctatgtgg gaagctgagg caggagaatc gcgcaattag gacttgtctg agctacgaac 8820
atatagcagg ttcaagagca gcctgggcaa tttggcaaga tccgttctca aagacataca 8880
tacatacata tatttggcaa gatccgttct caaagacata catacataca tacatttggc 8940
aagatccggt ctcaaagaca tacatacatg catgcatgca taaatacatg tataaatgaa 9000
tataaaatta aaataggaac aggactgagg acatgccag tgatgtacag gaccctgggt 9060
tcagtttcta gcaccatggt cgctggcatg caaaagcttt ccatgtcaag gaagtagaac 9120
tcctgaattc tgtgctatgc aatgacttc acagcaagggt tccttcccat cactgcaagt 9180
gtgtgggtgg gaagcagccc tacagggagt tcaactcgcca tggggtttta aaggtgaatt 9240
atttcaaac tgaaatctga aagagtgtag ttttggatta actcagtttt tattatctct 9300
ttggataatg ttctaccttc aaaggtttac agaagaccct caggcatcag gcttttaatt 9360
gaaaaatatt cagctttaat cactgacctc aatatcagaa aagaatgaag tgtccattta 9420
gtagtcctcg gaccgtagat ggcattaagc agctgtaaga aacacgctca tcacatgggt 9480
caacaattaa ggattgcat ggtgcacccg atccccagc tctgtttaaa cttttctct 9540
gtcatctatg cctatctaag atgtctcagc atatcatgct tattgtctct tccttctct 9600
tgaacacaag ctctaggggt aggggctttg gtcagtttta ttggtggacc tgttggcctt 9660
gacgtattat gaaggggcag tgtaataaga aaagaaaacc gtgtttggtg atggaatggt 9720
ttaaaaaaaaa attagcttaa aatgtatgct atacgaacgg gcatgaatct gggagatttt 9780

ES 2 857 702 T3

agactgttcc ttgtgagccg taggaacttt cttgtttctg tgttcacagt cctccgcagc 9840
 tgtgctcatg gtccctccaca tctgcctaac aacagcaggg gtagatgta taattaacac 9900
 tcacagaaca cctgatatgt gagaggttgt gccctgggct tcttgctcat atgaattcat 9960
 ttcatcttta acataactct tcgggggagg cacttgccca tgaccatggc ttgttttctt 10020
 tcctatcgac tatctttcaa atcggaatgt gtctttccct aggtgacatc tcagattcaa 10080
 tgttacacag cactgctgtg cccatthttca ggcattaaaa atgcatccg cctaaattcc 10140
 accccgataa aattatgcag ccaggttcgg aaccctaacta gcccatctct aaaaatctat 10200
 gcccttcta gccctcgcttt gttgcctgtc tttgtacctc tggagtgggt atcaaggaac 10260
 agaatggctt taaacatgat ttgaactttt cctggttttt gatcacagca gtaacagagt 10320
 gttctagaga taagccagag gtttgaaaac aaacagaact tgtctttgag gtgttataaa 10380
 catgtgtgtg attataaagg atatatctgg tgccaatagg tatagcttat attataagaa 10440
 atggccattg tgaagatcag aaggagataa ctactgatt tcaggtgggt gattcaatct 10500
 aacacatgat atattctgaa actgtacaaa aaagatattc aaaagaagaa acacatggaa 10560
 caaagagtat atggaaattc tgacaactca gaatcagtgt atgttaagat gaagttcatg 10620
 attaacaaat ggagatggtc gcagtcattc tgaagcttat tttagccaat gctttatcac 10680
 atccaactca atcttcgctt tttttttttc agatggatct tcccattttt aattaacctt 10740
 atcatgatag ccctagtaa ggcattgctt gacatttctt ttcttttttt ttatagctta 10800
 tgtttctttt tttaaaaatt tttttactac atattttcct caattacatt tccaatgcta 10860
 tcccaaaagt ccccatacc ctccctcccc actcccctac ccaccactc ccaacttttg 10920
 gccctggggg tcccctgtac tgggggatat aaagtctgcg tgtccaatgg gcctctcttt 10980
 ccagtgatgg cctactaggc catcttttga tacatatgca gcttgagtca agagctccgg 11040
 ggtactgggt agttcatagt gttgttccac ctatagggtt gcagatccct ttagttcctt 11100
 ggggtgctttc tctagcttct ccattgggag ccctgtgatc catccaatag ctgactgtga 11160
 gcatccactt ctgtgtttgc taggtcccgg ccaagtctca caagagacag ctatttcagg 11220
 gtcccttcag catatgcttg ctagtgtatg caatgggtgc atcgtttga ggctaattat 11280
 gggatggctc cctggatatg gcagtctcta aatggccat ccttttgtct cagctccaaa 11340
 ctttgtctct gtaactcctt tcaatcttcg tttttaatgt ccgaaaatga ctggtaacgt 11400
 cactgcttac atttcccttt gctttgtgtt gaattgtgag ctttatcttt gatctggagt 11460
 ttctttaaga agactttgta atgtgcttat ttttaaagat ggtgaattca attaaagata 11520
 gacaagaggg acgggtctgt atttcatctg gtagagtgtc tacctgcat tcatgaagtt 11580
 ctggttcgat ccccgccaca gcatagaacc acatgcggtg gcaactcagt tgcctgtgac 11640

ES 2 857 702 T3

cccagcactc aggagctaga ggcaggttac ctttgactac acagcaagtt caaggctagc 11700
 ctggtctaca tgcaactcct cctcaaaggg aaaacaaaac aaaaatagac aggagaattg 11760
 gaaacatcca tagaaaccca aatatgaatc aatagactcc cctcttcctg tgtcagacat 11820
 tcagactcag tgacagccgt caccgtttat gaggcattgac tgattttaca gatcctagag 11880
 caagcgtgca caattctggg gtttcctgcc tgcgtcctca cacacacgct caccttaggg 11940
 acggaggcag cggagggtcta gtcagtttca gacgaatcca ctcatcagct gctcaccatg 12000
 gtcttctagg tgaagcagaa ctctccttcc atcagcaccg gtgaaaaaca aaagtggaaa 12060
 gcagatattt cactccgaat gctttatcat tggcagtgat ttcaaattta aaccactaat 12120
 ttcccagaag aattaggtca cgggccatgt ggcattagac cctattgtgg tgacattatt 12180
 tcctgatgtg cctatttaat aatgtatagt ggtctcatct ttatttagtt ggtcttgaat 12240
 gtgataaata caagactggg caagtgttca tcaaagctgt tacttgaaat tgtaattata 12300
 cctattttgt tgggtggtgtt ttttcttggg tcatggacaa ccaaacacat tacggccttg 12360
 ctttgtctta gctactctgt gtcaagttcc tgtgaaaata ccgtattaca gtgctcttat 12420
 tacatctttg gtaatgaagt agtcacctaa gccctatcc tgggctctct atggctcact 12480
 aaagaatcgt aagttggata atgattgctg aagaaataga tatgttttat ttacattgag 12540
 gtagaaagac ctgtggtttc taggtaacag tttacttaac ttagttgcta catctagttt 12600
 gcaactcagta aacaccctgg tgtggttttt acaacaacaa ggttgttcct gaagcccaaa 12660
 catggcccag atttgaatag aagacctgag gcagactaac actcactccc tgctgccaaa 12720
 gtagcagagc cggggacata tttctccaat agccagcccg agttgatgct ctttgtaagc 12780
 agacaccaca aagccacacg gctagcccta agatgggaga gccctgacct ctctttgctt 12840
 ctgacctagc cccataaccg aaaatcaacc agagaatttc cgtggatcca gccacttctg 12900
 agcatgaact aatatgtcag gccgaggggt atccagaagc tgaggtaatc tggacaaaca 12960
 gtgaccacca acccgtgagt ggggaagagaa gtgtcaccac ttcccggaca gaggggatgc 13020
 ttctcaatgt gaccagcagt ctgaggggtca acgccacagc gaatgatggt ttctactgta 13080
 cgttttgag atcacagcca gggcaaaacc acacagcggg gctgatcatc ccaggtgagt 13140
 tgcctaactc gtccccggat tcctagcacg atggccatcc gccatagtca tttagcagta 13200
 gttggccgag tgtatgaata catgaaactt acattggcta gacgtattct agttcctctt 13260
 tctcttgctg gcaagccata atgctacttg gtcaacactc agcaagaatt aagtgtttgc 13320
 tcctgacaga cagtatgtta gtcattgagt attcgtggct ggataggaca taagttactc 13380
 tgctccagga aacaggtgac agtcgcatgt aggagatgct cttgtaactt gggcaccacg 13440
 ggcaacgtga gagcaagctt atgcttcagg aatgtaaacc tttgtcacat caaagctgcc 13500
 ctcttccctc ccgggctgct gtagtagaaa gcaaatgcat tgcctttttt tgtatcttat 13560

ES 2 857 702 T3

attcaacagg aagaatcctt tcttcccata ctctcttca gggcattccc tgatacttca 13620
 actccaggaa gtctgcctgt gcatagaaca cgaggctgat gcctatgggc aaccgactag 13680
 ctgggttgta actcaccagg ccagggcatt gtagggatag aatgagctgc acgaaaatga 13740
 ttgtaggaaa atcgtttgag aattcagctg tctttaaaat tcatttacct tacagaaata 13800
 gggccacagg agacagtttg gtgagaggct cagagcatta tatgaatatg aaccagagg 13860
 tactcactct gaggaggggtt gcttctgcct ccatcgacac ccctttcca atgtatgtca 13920
 acagtacatt gatgtctaga gatagctctg tgaagtttag agaagatata taaaactaca 13980
 ttaaaaagtc aaccaatatg aaaaatgaag cccaggatgg gcgtggagcc aaaaggagca 14040
 cacaagtttg gaaaaatgta aaataaaaag gaagacactc taactagaat tggacttttc 14100
 cataaaagct atattgttgg tttcctacca ttaaatgttt tatggggctg gagacgttgt 14160
 agctcagttg ggagagtact tgcttagcat ccacaatgct ctgaccccag cgccatataa 14220
 acgtatatag ggctcaccta tagtctaac actttgggtg tggaagccgg agggtcagtt 14280
 caaggtcatc ctcagcttca tagcaagttc aaggccagta tggactgact acaagagacc 14340
 ctgcctcaaa gacaaaacaa gcaaacatca tcataataaa acagcaaaaa gctgttctct 14400
 ggccatttct ttgtaggaca tcctggagta acttaaccac tctgagtgtc tcttctcatc 14460
 tgtaacttgg gttcatagtg ggaccaaata ggagctgagt tacaacagga gatggaagtt 14520
 agcaatctca gagcatccca gagccctggg acccattttt ctctttctca aaactccagg 14580
 cagagaaaca gggagatggt aatgactgga gtgcccaaga gtctcagaca tggagaaac 14640
 acaaccgca ctggtccaca tttgtgggag acagaagcgg cttagcagtg ccccgcttct 14700
 ccatgttcgg gagttggcct tccacaccaa gtcagccatt actgtctata ttaatgagtg 14760
 cacaaggaag ttaactgact aaggttacca tttaatattg cagtcacttt ctgtggcaac 14820
 atgtcacagg cctggagttc ttctctgtgc tgctcccagt ttcttaggag atctgtcttc 14880
 ttcttocaac ccttacctgg acattaactt tcagtgatta agattaccct aagacaaac 14940
 tatatttcag gagtcatcat tcccctgact atggcgcagc aaagccttac ctccatcag 15000
 cttctcttta tccttttcca gaactgcctg caacacatcc tccacagaac aggactcact 15060
 ggggtcttct gggatccatc ctggtgttcc tcattgtagt gtccacggtc ctctcttct 15120
 tgagaaaaca aggtatttcc tccattgctg tactgcctgc agggaagtgc atgagggtcc 15180
 cttcaccatt gccttgagca ggcagtgcc aagatggtac caccctgaca agaacagacc 15240
 cacatcacag ggcgtcctac actgcacgct agctgaacct caccaggaaa cactgacttg 15300
 aaaggtgctg ccctccattc cctgggcttg ctttcagtta cacagagtaa gttttaacag 15360
 tgactctggg gtactgagtc ttccttaagt cctgttcaca ttgttgctct gcgacatctc 15420

ES 2 857 702 T3

ctaccttggg gctcgggtgtt ggaccctggt gtaatatgaa gaggtatcag ttggacaagg 15480
gcgtagggaa gctaaaagac ttagctttca aggcgtgggg gagggggagg gcattgtgag 15540
gttcctgtt cagcggttca gagtaaagct gggcagcaca caagtttaga caacaaggaa 15600
gatgctctaa ctgggggttg aggtcaatgg tgcagggata ggtagcaatg gaggctaaag 15660
aagaaagcca taaggtttct ttctacagac tctgaagaca gagcactgtg gtgcctattg 15720
gtctcaggty aactcaagtc ttgtgttcct tacaccacct attgagctgg gttctggata 15780
ccctaagtgg aaaaacactt ctgtctaaaa agagctgtgg catctttacc acaaagcact 15840
tttttttttt gcaagatttc tgaagacgaa atgacacagt ttttaaata atttccatat 15900
atttatttca gtacttacc ataagaatga ctgaaatcta ggaaaatgaa tatattcaaa 15960
taatgccttc ctattgtaaa gtgacttaga gtaaaccttt tcaccaata ctttgaaatg 16020
cataccaagt gagccaatga tgcattggact tgtgtgaagc caaatgggga aatagaatat 16080
gggaggggaa atcaatcatc agagaggaat tccccatcac ctttttgag ggcgctgta 16140
tgggaaaagt gttgtaactg gggcggtagc gaccagctgc ttcaaagaa taagccctga 16200
gcagaaccaa gagggttgcc aggggtgtgaa gattaagctt cagagacaca tctggcttag 16260
ggctagccta ggacttgcac aggaccgcag ttgttgctta atggcatctg ggatgattgg 16320
ctgaggatga ggaaagcaga gagtcagtta ggtggtgaagc tagctcagga tgtgggacgt 16380
ttctgagggg aggggtggaag acaaagtaga cagtcctaaa aaccatctga gaatgaaagt 16440
atgtacccta aattgttgaa taattaactt tgcggcgtgg gatctggaat aaggaagttc 16500
acgggctaaa agcctggtga ttaggggatt gatcgggtgc tcctaaaaac cttagttga 16560
aaatcgagtc cctgtgggtt gtagtagcat cttgctataa ggaattaaga ttgatttctt 16620
cttctttagt gagaatgcta gatgtggaga aatgtggcgt tgaagataca agctcaaaaa 16680
accgaaatgg taagtgtgag taacgagggg ggggcaagcc gaggggaatga gtgggacaga 16740
gcagccaagc agggctctgc aagggtgca gttccagcgc tctgtaggct gaggcagggg 16800
gatagggagt tccaggccag caaccacaca gccaaaaca acaaaacaaa acaaaaaaca 16860
aagcaaaagg aagagcagaa aaagctactg ttaccaaca gagacatact ttagccgtga 16920
tctcctctcc ttccaaagga agctgtttgt gggggctgct ggttcctctg cctaaggatc 16980
gccacatctg agaaaactct gggtttgctg ctgcgggtgc tgtgtggtag ccctgcaacc 17040
agggacgctg ttgacttatt tgaatgggca tttgattaag caaatgattc tgctgtgtgg 17100
ttagctgtta actgtttcat gtgtatgata tggcatttca tttcatcatc ctgccccaa 17160
tcagataaat atgagaatca tctccattgt atagtaggga aaacagggct gagaagataa 17220
tgcgaggtgc ctaagaacac acagacttgc taccacagac gtccgttctt tgctaggtgc 17280
ttcaatctat gctgctacta atgtctgtat ttataagagt agaaaactct gcccgggcgt 17340

ES 2 857 702 T3

tggtggccca	cgcccttaat	cccagcactc	gggaggcaga	ggtagtcgga	tttctgagtt	17400
tgaggccagc	ctggtctaca	gagtgagttc	caggacagcc	aggctacaca	gagaaaccct	17460
gtctcgaaaa	aatcaaaaa	agaaaaaaga	acaagaaaac	tctaactgaa	ctatcttgta	17520
gtaaattaca	gtgtgttcta	attcatttta	gtgttgttag	aaaccaaaca	gtaaggccag	17580
gcagaactaa	agtggtttcg	ctaacttggg	cagaccaag	caggttccct	cctgtacatt	17640
accatttatt	ctgctgagtc	accctgagga	accggcctgg	cttgctcaag	actgaggatt	17700
tctcagccat	gaacactttc	cattttaaaa	ctagggcagt	cccggacaag	caaggatggt	17760
tagtcatoct	tcatcatgta	agggtagtca	gacataggta	gtatctgtct	ctgtcttacg	17820
gcaacgttac	tatctgctct	agcaaacatc	ccatttgttt	atcttacata	tcatacgttt	17880
cccccccaca	tattccctgc	ccctgtgaaa	ttattatact	atgatcactc	tccagataca	17940
caattcgagg	agaogtaagc	agtgttgaac	cctctgatcg	tcgattggca	gcttgaggtc	18000
tgtgaaagaa	agggcccatg	ggacatgagt	caaagactc	aagatggaac	ctgagggaga	18060
gaaccaagaa	agtgttggga	gaggagcctg	gaacaacgga	cattttttcc	agggagacac	18120
tgctaagcaa	gttgcccatc	agtcgtcttg	ggaaatggat	tgagggttcc	tggttagca	18180
gctggtcctt	gcacagtgac	cttttcctct	gctcagtgcc	gggatgagag	atggagtcac	18240
gagtgttgaa	gaataagtgc	cttctattta	ttttgagtct	gtgtgttctc	actttgggca	18300
tgtaattatg	actggtgaat	tctgacgaca	tgatagatct	taagatgtag	tcaccaaac	18360
caactgctgc	ttagcatoct	ccgtaactac	tgatacaagc	agggaacaca	gaggtcacct	18420
gcttggtttg	acaggctcct	gctgtctgac	tcaaataatc	tttatttttc	agtcctcaag	18480
gctcttcgat	agcagttggt	ctgtatcagc	cttataggtg	tcaggtatag	cactcaacat	18540
ctcatctcat	tacaatagca	accctcatca	ccatagcaac	agctaacctc	tgttatcctc	18600
acttcatagc	caggaagctg	agcgactaag	tcacttgccc	acagagtatc	agctctcaga	18660
tttctgttct	tcagccactg	tcctttcagg	atagaatttg	tcgttaagaa	attaatttaa	18720
aaactgatta	ttgagtagca	ttgtatatca	atcacaacat	gccttgtgca	ctgtgctggc	18780
ctctgagcat	aaagatgtac	gccggagtac	cggtcggaca	tgtttatgtg	tgtaaatac	18840
tcagagaaat	gttcattaac	aaggagcttg	cattttagag	acactggaaa	gtaactccag	18900
ttcattgtct	agcattacat	ttacctcatt	tgctatcctt	gccatacagt	ctcttgttct	18960
ccatgaagtg	tcotgaatct	tgttgaatag	ttcttttatt	ttttaaagt	ttctatttaa	19020
atgatattga	catctgaggc	gatagctcag	ttggtaaaac	cctttcctca	caagtgtgaa	19080
accctgagtc	ttatccctag	aaccacata	aaaaacagtt	gcgatggtt	gtgcatgctt	19140
ttgatcccag	cactagggag	gcagaggcag	gcagatcctg	agctctcatt	gaccaccag	19200

ES 2 857 702 T3

tagacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacacat gtactcatag 19320
 acctaagtgc accctcctac acatgcacac acatacaatt caaacacaaa tcaacagggga 19380
 attgtctcag aatgggtcccc aagacaaaaga agaagaaaaa caccaaacca gctctattcc 19440
 ctcagcctat cctctctact ccttcctaga agcaactact attgtttttg tatataaatt 19500
 taccacaacga cagttaatat gtagaatata tattaaagtg tctgtcaata tatattatct 19560
 ctttctttct ttcttccttt ctttctttct ttctttcttt ctttctttct ttctttcttt 19620
 ctttctttct tccttccttc cttccttcct tccttccttc ctttctttct ttctttcttt 19680
 ttttctgtct atctgtacct aaatggttgc tcactatgca ttttctgtgc tcttcgccct 19740
 ttttatttaa tgtatggata tttatgctgc ttccagaatg gatctaaagc tctttgtttc 19800
 taggttttct cccccatcct tctaggcatc tctcacactg tctaggccag acaccatgtc 19860
 tgctgcctga atctgtagac accatttata aagcacgtac tcaccgagtt tgtatttggc 19920
 ttgttctgtg tctgattaaa gggagacct gagtccccag ggtacactga gttaccccag 19980
 taccaagggg gagccttggt tgtgtctcca tggcagaagc aggccctggag ccattttggt 20040
 ttcttccttg acttctctca aacacagacg cctcacttgc tcattacagg ttctcctttg 20100
 ggaatgtcag cattgctcct tgactgctgg ctgccctgga aggagcccat tagctctgtg 20160
 tgagcccttg acagctactg cctctcctta ccacaggggc ctctaagata ctgttaccta 20220
 gaggtcttga ggatctgtgt tctctggggg gaggaaagga ggaggaacc agaactttct 20280
 tacagttttc cttgttctgt cacatgtcaa gactgaagga acaggctggg ctacgtagtg 20340
 agatcctgtc tcaaaggaaa gacgagcata gccgaacccc cggtggaacc ccctctgtta 20400
 cctgttcaca caagcttatt gatgagtctc atgttaatgt cttgtttgta tgaagtttaa 20460
 gaaaatatcg ggttgggcaa cacattctat ttattcattt tatttgaaat cttaatgcca 20520
 tctcatggtg ttggattggt gtggcacttt attcttttgt gttgtgtata accataaatt 20580
 ttattttgca tcagattgtc aatgtattgc attaatttaa taaatatttt tattttattaa 20640
 a 20641

5 <210> 5
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Motivo de oligonucleótidos
 10 <400> 5

taattggctc tactgc 16

15 <210> 6
 <211> 16

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 6	
	tcgcataaga atgact	16
10	<210> 7	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 7	
20	tgaacacaca gtcgca	16
	<210> 8	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 8	
	ctgaacacac agtcgc	16
35	<210> 9	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 9	
45	tctgaacaca cagtcg	16
	<210> 10	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 10	
	ttctgaacac acagtc	16
	<210> 11	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
65	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 11	
5	acaagtc atg ttacta	16
	<210> 12	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 12	
15	acacaag tca t gttac	16
	<210> 13	
	<211> 16	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 13	
	cttactt aga t gctgc	16
30	<210> 14	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 14	
40	acttact tag at gctg	16
	<210> 15	
	<211> 16	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 15	
	gacttact ta gat gct	16
	<210> 16	
55	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 16	
	agacttact t agat gc	16

	<210> 17	
	<211> 16	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
10	<400> 17	
	gcaggaagag acttac	16
	<210> 18	
15	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
20	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 18	
	aataaattcc gttcagg	17
25	<210> 19	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 19	
35	gcaaataaat tccggt	16
	<210> 20	
40	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 20	
	agcaaataaa ttccgt	16
50	<210> 21	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 21	
60	cagagcaaat aaattcc	17
	<210> 22	
	<211> 18	
	<212> ADN	

	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
5	<400> 22	
	tgacagagc aaataaat	18
10	<210> 23	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 23	
20	atgacagag caaata	16
	<210> 24	
	<211> 16	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 24	
	cagaatgac agagca	16
35	<210> 25	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 25	
45	ttctcagaat ggacag	16
	<210> 26	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
50	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 26	
55	ctgaactttg acatag	16
	<210> 27	
	<211> 18	
60	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 27	
5	aagacaaacc cagactga	18
	<210> 28	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 28	
15	tataagacaa acccagac	18
	<210> 29	
	<211> 18	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 29	
	ttataagaca aacccaga	18
30	<210> 30	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 30	
40	tgttataaga caaaccc	17
	<210> 31	
	<211> 17	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 31	
	tagaacaatg gtacttt	17
	<210> 32	
55	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 32	
	gtagaacaat ggtact	16
65		

	<210> 33	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 33	
10	aggtagaaca atggta	16
	<210> 34	
	<211> 17	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 34	
	aagaggtaga acaatgg	17
25	<210> 35	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 35	
35	gcatccacag taaatt	16
	<210> 36	
	<211> 16	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
45	<400> 36	
	gaaggttatt taattc	16
	<210> 37	
50	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
55	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 37	
	ctaatcgaat gcagca	16
60	<210> 38	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
5	<400> 38		
	taccaatct aatcga		16
10	<210> 39		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
15	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 39		
	tagttaccca atctaa		16
20	<210> 40		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 40		
30	catttagtta cccaat		16
35	<210> 41		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
40	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 41		
	tcatttagtt acccaa		16
45	<210> 42		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 42		
55	ttcatttagt taccca		16
60	<210> 43		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		

	<400> 43		
	gaattaattt catttagt		18
5	<210> 44 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 44		
15	cagtgaggaa ttaattt		17
	<210> 45 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
20	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
25	<400> 45		
	ccaacagtga ggaatt		16
	<210> 46 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
30	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
35	<400> 46		
	cccaacagtg aggaat		16
40	<210> 47 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
45	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 47		
50	tataccaac agtgagg		17
	<210> 48 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
60	<400> 48		
	ttatacccaa cagtgag		17

	<210> 49	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 49	
10	tttatacca acagtga	17
	<210> 50	
	<211> 16	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 50	
	cctttatacc caacag	16
25	<210> 51	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 51	
35	taacctttat acccaa	16
	<210> 52	
	<211> 17	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
45	<400> 52	
	aataaccttt ataccca	17
	<210> 53	
50	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
55	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 53	
	gtaaataacc ttata	16
60	<210> 54	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
65		

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 54		
5	actgtaaata acctttat		18
	<210> 55		
	<211> 16		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15	<400> 55		
	atatatatgc aatgag		16
20	<210> 56		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 56		
30	agatatatat gcaatg		16
	<210> 57		
	<211> 16		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 57		
	gagatatata tgcaat		16
	<210> 58		
45	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
50	<400> 58		
	ccagagatat atatgc		16
55	<210> 59		
	<211> 17		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 59		

	caatattcca gagatat	17
5	<210> 60 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 60	
15	gcaatattcc agagata	17
20	<210> 61 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 61	
30	agcaatattc cagagat	17
35	<210> 62 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 62	
45	cagcaatatt ccagag	16
50	<210> 63 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 63	
60	aatcagcaat attccag	17
65	<210> 64 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 64	
75	acaatcagca atattcc	17
80	<210> 65	

	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 65	
10	actaagtagt tacacttct	19
	<210> 66	
	<211> 17	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 66	
	ctaagtagtt acacttc	17
	<210> 67	
25	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 67	
35	gactaagtag ttacactt	18
	<210> 68	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 68	
45	tgactaagta gttaca	16
	<210> 69	
	<211> 17	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 69	
	ctttgactaa gtagtta	17
60	<210> 70	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 70		
5	ctctttgact aagtag		16
	<210> 71		
	<211> 16		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15	<400> 71		
	gctctttgac taagta		16
20	<210> 72		
	<211> 17		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 72		
30	ccttaaatac tgttgac		17
	<210> 73		
	<211> 16		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 73		
	cttaaatact gttgac		16
45	<210> 74		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
50	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 74		
	tccttaaata ctgttg		16
55	<210> 75		
	<211> 17		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 75		
65			

	tctccttaaa tactggt	17
	<210> 76	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 76	
	tatcatagtt ctctt	16
15	<210> 77	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 77	
25	agtatcatag ttctcc	16
	<210> 78	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 78	
	gagtatcata gttctc	16
40	<210> 79	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 79	
50	agagtatcat agttct	16
	<210> 80	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 80	
60	cagagtatca tagttc	16
	<210> 81	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 81	
	ttcagagtat catagt	16
10	<210> 82	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 82	
20	cttcagagta tcatag	16
	<210> 83	
	<211> 17	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 83	
	ttcttcagag tatcata	17
35	<210> 84	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 84	
45	tttcttcaga gtatcat	17
	<210> 85	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 85	
	gagaaaggct aagttt	16
	<210> 86	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
65	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 86	
5	gacactcttg tacatt	16
	<210> 87	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 87	
15	tgagacactc ttgtaca	17
	<210> 88	
	<211> 16	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 88	
	tgagacactc ttgtac	16
30	<210> 89	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 89	
40	ctttattaataa ctccat	16
	<210> 90	
	<211> 16	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 90	
	accaaacttt attaaa	16
	<210> 91	
55	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 91	
	aaacctctac taagtg	16

5	<210> 92 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
10	<400> 92 agattaagac agttga	16
15	<210> 93 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 93	
25	aagtaggagc aagaggc	17
30	<210> 94 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 94 aaagtaggag caagagg	17
40	<210> 95 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 95 gttaagcagc caggag	16
50	<210> 96 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 96	
60	agggtaggat gggtag	16
65	<210> 97 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
5	<400> 97		
	aagggtagga tgggta		16
10	<210> 98		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
15	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 98		
20	caagggtagg atgggt		16
	<210> 99		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 99		
30	ccaagggtag gatggg		16
	<210> 100		
	<211> 16		
35	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
40	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 100		
45	tccaagggta ggatgg		16
	<210> 101		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 101		
55	cttccaaggg taggat		16
	<210> 102		
	<211> 17		
	<212> ADN		
60	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		

	<400> 102		
	atcttccaag ggtagga		17
5	<210> 103 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 103		
15	agaagtgatg gctcatt		17
	<210> 104 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
20	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
25	<400> 104		
	aagaagtgat ggctcat		17
	<210> 105 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
30	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
35	<400> 105		
	gaagaagtga tggctca		17
40	<210> 106 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
45	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 106		
50	atgaaatgta aactggg		17
	<210> 107 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
60	<400> 107		
	caatgaaatg taaactgg		18

	<210> 108	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 108	
10	gcaatgaaat gtaaactg	18
	<210> 109	
	<211> 18	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 109	
	agcaatgaaa tgtaaact	18
25	<210> 110	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 110	
35	gagcaatgaa atgtaaac	18
	<210> 111	
	<211> 17	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
45	<400> 111	
	tgaattccca tatccga	17
	<210> 112	
50	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
55	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 112	
	agaattatga ccatat	16
60	<210> 113	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
5	<400> 113		
	aggtaagaat tatgacc		17
	<210> 114		
10	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
15	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 114		
	tcaggtaaga attatgac		18
20	<210> 115		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 115		
30	cttcaggtaa gaattatg		18
	<210> 116		
	<211> 17		
35	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 116		
	tcttcaggta agaatta		17
45	<210> 117		
	<211> 17		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 117		
55	cttcttcagg taagaat		17
	<210> 118		
	<211> 17		
	<212> ADN		
60	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
65	<400> 118		

	tcttcttcag gtaagaa	17
5	<210> 119 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 119	
15	tcttcttcag gtaaga	16
20	<210> 120 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 120	
30	tggtctaaga gaagaag	17
35	<210> 121 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 121	
45	gttggtctaa gagaag	16
50	<210> 122 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 122	
60	agttggtcta agagaa	16
65	<210> 123 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 123	
	cagttggtct aagagaa	17

	<210> 124	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 124	
10	gcagttggtc taagagaa	18
	<210> 125	
	<211> 16	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 125	
	cagttggtct aagaga	16
25	<210> 126	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 126	
35	gcagttggtc taagaga	17
	<210> 127	
	<211> 16	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
45	<400> 127	
	gcagttggtc taagag	16
50	<210> 128	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
55	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 128	
	ctcatatcag ggcagt	16
60	<210> 129	
	<211> 17	
	<212> ADN	
65	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 129		
5	cacacatggt ctttaac		17
	<210> 130		
	<211> 18		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15	<400> 130		
	taaatacaca catggtct		18
20	<210> 131		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 131		
30	gtaaatacac acatgttc		18
	<210> 132		
	<211> 18		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 132		
	tgtaaataca cacatggt		18
45	<210> 133		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 133		
	gatcatgtaa atacacac		18
55	<210> 134		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 134		

	agatcatgta aatacaca	18
5	<210> 135 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 135	
15	caaagatcat gtaaatacac	20
20	<210> 136 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 136	
30	acaaagatca tgtaaataca	20
35	<210> 137 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 137	
45	gaatacaaaag atcatgta	18
50	<210> 138 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 138	
60	agaatacaaaa gatcatgt	18
65	<210> 139 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 139	
75	cagaatacaaa agatcatg	18
80	<210> 140	

	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 140	
10	gcagaataca aagatca	17
	<210> 141	
	<211> 17	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 141	
	aggcagaata caaagat	17
	<210> 142	
25	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 142	
	aaggcagaat acaaaga	17
35	<210> 143	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 143	
45	attagtgagg gacgaa	16
	<210> 144	
	<211> 16	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 144	
	cattagtgag ggacga	16
60	<210> 145	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 145		
5	gagggatgatg gattag		16
	<210> 146		
	<211> 16		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15	<400> 146		
	ttaggagtaa taaagg		16
20	<210> 147		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 147		
30	ttaatgaatt tggttg		16
	<210> 148		
	<211> 16		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 148		
	ctttaatgaa tttggt		16
	<210> 149		
45	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
50	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 149		
	catggattac aactaa		16
55	<210> 150		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 150		
65			

	tcatggatta caacta	16
	<210> 151	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 151	
	gtcatggatt acaact	16
15	<210> 152	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 152	
25	cattaaatct agtcat	16
	<210> 153	
	<211> 17	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 153	
	gacattaaat ctagtca	17
40	<210> 154	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 154	
50	agggacatta aatcta	16
	<210> 155	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 155	
60	caaagcatta taacca	16
	<210> 156	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 156	
	acttactagg cagaag	16
10	<210> 157	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 157	
20	cagagttaac tgtaca	16
	<210> 158	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 158	
	ccagagttaa ctgtac	16
35	<210> 159	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 159	
45	gccagagtta actgta	16
	<210> 160	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 160	
	tgggccagag ttaact	16
	<210> 161	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 161	
5	cagcatctat cagact	16
	<210> 162	
	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 162	
	tgaataaca tgagtc	18
	<210> 163	
20	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 163	
	gtgaataac atgagtc	17
30	<210> 164	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 164	
40	tctgtttatg tcactg	16
	<210> 165	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 165	
	gtctgtttat gtcact	16
55	<210> 166	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 166	

	tggtctgttt atgtca	16
	<210> 167	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 167	
	ttggtctggt tatgtc	16
15	<210> 168	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 168	
25	tcacccattg tttaaa	16
	<210> 169	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 169	
	ttcagcaaat attcgt	16
40	<210> 170	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 170	
	gtgtgttcag caaatat	17
50	<210> 171	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 171	
60	tctattgta ggtatc	16
	<210> 172	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 172	
	attgccatc ttactg	16
10	<210> 173	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 173	
20	tattgccat cttact	16
	<210> 174	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 174	
	aaatattgcc catctt	16
35	<210> 175	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 175	
45	ataaccttat cataca	16
	<210> 176	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 176	
	tataacctta tcatatc	16
	<210> 177	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 177	
5	ttataacctt atcata	16
	<210> 178	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 178	
	tttataacct tatcat	16
	<210> 179	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 179	
	actgctattg ctatct	16
30	<210> 180	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 180	
40	aggactgcta ttgcta	16
	<210> 181	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 181	
	gaggactgct attgct	16
55	<210> 182	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 182	

	acgtagaata ataaca	16
	<210> 183	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 183	
	ccaagtgata taatgg	16
15	<210> 184	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 184	
25	ttagcagacc aagtga	16
	<210> 185	
	<211> 16	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 185	
	gtttagcaga ccaagt	16
40	<210> 186	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 186	
50	tgacagtgat tatatt	16
	<210> 187	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 187	
60	tgtccaagat attgac	16
	<210> 188	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 188	
	gaatataccta gattgt	16
10	<210> 189	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 189	
20	caaaactgaga atatcc	16
	<210> 190	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 190	
	gcaaaactgag aatatac	16
35	<210> 191	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 191	
45	tcctattaca atcgta	16
	<210> 192	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 192	
	ttcctattac aatcgt	16
	<210> 193	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
65	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 193	
5	actaatggga ggattt	16
	<210> 194	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 194	
15	tagttcagag aataag	16
	<210> 195	
	<211> 16	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 195	
	taacatatag ttcaga	16
30	<210> 196	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 196	
40	ataacatata gttcag	16
	<210> 197	
	<211> 16	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 197	
	cataacatat agttca	16
	<210> 198	
55	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 198	
	tcataacata tagttc	16

5	<210> 199 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
10	<400> 199	
	tagctcctaa caatca	16
15	<210> 200 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 200	
	ctccaatctt tgtata	16
25	<210> 201 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
30	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 201	
35	tctccaatct ttgtat	16
40	<210> 202 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
45	<400> 202	
	tctatttcag ccaatc	16
50	<210> 203 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 203	
60	cggaagtcag agtgaa	16
	<210> 204 <211> 16 <212> ADN	

	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 204	
	ttaagcatga ggaata	16
10	<210> 205	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 205	
20	tgattgagca cctctt	16
	<210> 206	
	<211> 16	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 206	
	gactaattat ttcgtt	16
35	<210> 207	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 207	
45	tgactaatta tttcgt	16
	<210> 208	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
50	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 208	
55	gtgactaatt atttcg	16
60	<210> 209	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 209	
5	ctgcttgaaa tgtgac	16
	<210> 210	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 210	
	cctgcttgaa atgtga	16
	<210> 211	
	<211> 16	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 211	
	atcctgcttg aaatgt	16
30	<210> 212	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 212	
40	attataaatc tattct	16
	<210> 213	
	<211> 16	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 213	
	gctaaatact ttcac	16
	<210> 214	
55	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 214	
	cattgtaaca taccta	16

5	<210> 215 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
10	<400> 215	
	gcattgtaac atacct	16
15	<210> 216 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 216	
25	taatattgca ccaaat	16
30	<210> 217 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 217	
	gataatattg caccaa	16
40	<210> 218 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 218	
50	agataatatt gcacca	16
55	<210> 219 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 219	
60	gccaagaaga taatat	16
65	<210> 220 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	

<220>
 <223> Motivo de oligonucleótidos
 5 <400> 220
 cacagccaca taaact 16
 <210> 221
 10 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Motivo de oligonucleótidos
 <400> 221
 ttgtaattgt ggaaac 16
 20 <210> 222
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Motivo de oligonucleótidos
 <400> 222
 30 <400> 222
 tgacttgtaa ttgtgg 16
 <210> 223
 <211> 16
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Motivo de oligonucleótidos
 40 <400> 223
 tctaactgaa atagtc 16
 <210> 224
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Motivo de oligonucleótidos
 <400> 224
 50 <400> 224
 gtggttctaa ctgaaa 16
 <210> 225
 <211> 16
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Motivo de oligonucleótidos

	<400> 225	
	caatatggga cttggt	16
5	<210> 226 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 226	
15	atgacaatat gggact	16
	<210> 227 <211> 16 <212> ADN	
20	<213> Secuencia artificial <220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 227	
	tatgacaata tgggac	16
30	<210> 228 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 228	
40	atatgacaat atggga	16
	<210> 229 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 229	
50	cttcacttaa taatta	16
	<210> 230 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 230	
60	ctgcttcact taataa	16

	<210> 231	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 231	
10	aagactgctt cactta	16
	<210> 232	
	<211> 16	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 232	
	gaatgcccta attatg	16
25	<210> 233	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 233	
35	tggaatgccc taatta	16
	<210> 234	
	<211> 16	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
45	<400> 234	
	gcaaatgcca gtaggt	16
50	<210> 235	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
55	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 235	
60	ctaatggaag gatttg	16
	<210> 236	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
5	<400> 236		
	aatatagaac ctaatg		16
10	<210> 237		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
15	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 237		
20	gaaagaatag aatggt		16
	<210> 238		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 238		
30	atgggtaata gattat		16
	<210> 239		
	<211> 16		
35	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
40	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 239		
45	gaaagagcac aggggtg		16
	<210> 240		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 240		
55	ctacatagag ggaatg		16
	<210> 241		
	<211> 16		
	<212> ADN		
60	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
65	<400> 241		

	gcttcctaca tagagg	16
5	<210> 242 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 242	
15	tgcttcctac atagag	16
20	<210> 243 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 243	
30	tgggcttgaa atatgt	16
35	<210> 244 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 244	
45	cattatattt aagaac	16
50	<210> 245 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 245	
60	tcggttatgt tatcat	16
65	<210> 246 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 246	
75	cactttatct ggtcgg	16
80	<210> 247	

	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 247	
10	aaattggcac agcggt	16
	<210> 248	
	<211> 16	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 248	
	accgtgacag taaatg	16
	<210> 249	
25	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 249	
	tggaaccgt gacagta	17
35	<210> 250	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 250	
45	ccacatatag gtcctt	16
	<210> 251	
	<211> 16	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 251	
	catattgcta ccatag	16
60	<210> 252	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 252		
5	tcatattgct accata		16
	<210> 253		
	<211> 16		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15	<400> 253		
	caattgtcat attgct		16
	<210> 254		
	<211> 18		
20	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
25	<400> 254		
	cattcaattg tcatattg		18
30	<210> 255		
	<211> 17		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 255		
	tttctactgg gaatttg		17
	<210> 256		
45	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
50	<400> 256		
	caattagtgc agccag		16
55	<210> 257		
	<211> 17		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 257		

	gaataatggtt cttatcc	17
5	<210> 258 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 258	
15	cacaaattga ataatgttct	20
20	<210> 259 <211> 19 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 259	
30	catgcacaaa ttgaataat	19
35	<210> 260 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 260	
45	atcctgcaat ttcacat	17
50	<210> 261 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 261	
60	ccaccatagc tgatca	16
65	<210> 262 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 262	
75	accaccatag ctgatca	17
80	<210> 263	

	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 263	
10	caccaccata gctgatc	17
	<210> 264	
	<211> 16	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 264	
	tagtcggcac caccat	16
	<210> 265	
25	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 265	
	cttgtagtcg gcaccac	17
35	<210> 266	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 266	
45	cttgtagtcg gcacca	16
	<210> 267	
	<211> 16	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 267	
	cgottgtagt cggcac	16
60	<210> 268	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 268		
5	tcaataaaga tcaggc		16
	<210> 269		
	<211> 16		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15	<400> 269		
	tggaactaca agaatg		16
20	<210> 270		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 270		
30	atggacttac aagaat		16
	<210> 271		
	<211> 16		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 271		
	gctcaagaaa ttggat		16
	<210> 272		
45	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
50	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 272		
	tactgtagaa catggc		16
55	<210> 273		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 273		

	gcaattcatt tgatct	16
5	<210> 274 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 274	
15	tgaagggagg agggacac	18
20	<210> 275 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 275	
30	agtgggtgaag ggaggag	17
35	<210> 276 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 276	
45	tagtgggtgaa gggaggag	18
50	<210> 277 <211> 19 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 277	
60	atagtgggtga agggaggag	19
65	<210> 278 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 278	
75	tagtgggtgaa gggagga	17
80	<210> 279	

	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 279	
10	atagtgggtga agggagga	18
	<210> 280	
	<211> 16	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 280	
	tagtgggtgaa gggagg	16
	<210> 281	
25	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 281	
	atagtgggtga agggagg	17
35	<210> 282	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 282	
45	gatagtgggtg aaggagg	18
	<210> 283	
	<211> 16	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 283	
	atagtgggtga agggag	16
60	<210> 284	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
65	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 284	
5	gatagtgggtg aagggag	17
	<210> 285	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 285	
	gagatagtgg tgaagg	16
	<210> 286	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 286	
	catgggagat agtgggt	16
30	<210> 287	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 287	
40	acaaataatg gttactct	18
	<210> 288	
	<211> 18	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 288	
	acacacaaat aatgggta	18
55	<210> 289	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 289	

	gagggacaca caaataat	18
	<210> 290	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 290	
	atatagagag gctcaa	16
15	<210> 291	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 291	
25	ttgatataga gaggct	16
	<210> 292	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 292	
	gcatttgata tagaga	16
40	<210> 293	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 293	
50	tttgcatttg atatag	16
	<210> 294	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
60	<400> 294	
	ctggaagaat aggttc	16
	<210> 295	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 295	
	actggaagaa taggtt	16
10	<210> 296	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 296	
20	tactggaaga ataggt	16
	<210> 297	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 297	
	tggcttatcc tgtact	16
35	<210> 298	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 298	
45	atggcttatc ctgtac	16
	<210> 299	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 299	
	tatggcttat cctgta	16
	<210> 300	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 300	
5	gtatggctta tcctgt	16
	<210> 301	
	<211> 17	
10	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 301	
	atgaatatat gcccgat	17
	<210> 302	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 302	
	gatgaatata tgccca	16
30	<210> 303	
	<211> 17	
	<212> ADN	
35	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 303	
40	caagatgaat atatgcc	17
	<210> 304	
	<211> 17	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 304	
	gacaacatca gtataga	17
55	<210> 305	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 305	

	caagacaaca tcagta	16
	<210> 306	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 306	
	cactcctagt tccttt	16
15	<210> 307	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 307	
25	aacactccta gttcct	16
	<210> 308	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 308	
	taacactcct agttcc	16
40	<210> 309	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 309	
50	ctaactcctcc tagttc	16
	<210> 310	
	<211> 16	
	<212> ADN	
55	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 310	
60	tgataacata actgtg	16
	<210> 311	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 311	
	ctgataacat aactgt	16
10	<210> 312	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 312	
20	tttgaactca agtgac	16
	<210> 313	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 313	
	tcctttactt agctag	16
35	<210> 314	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 314	
45	gagtttggat tagctg	16
	<210> 315	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 315	
	tgggatatga cagga	16
	<210> 316	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 316	
5	tgtgggatat gacagg	16
	<210> 317	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 317	
	atatggaagg gatatc	16
	<210> 318	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 318	
	acaggatatg gaaggg	16
30	<210> 319	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 319	
40	atttcaacag gatatgg	17
	<210> 320	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 320	
	gagtaatttc aacagg	16
55	<210> 321	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 321	

	agggagtaat ttcaaca	17
	<210> 322	
	<211> 17	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 322	
	attaggagat aatttca	17
15	<210> 323	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 323	
25	cttactatta gggagt	16
	<210> 324	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 324	
	cagcttacta ttaggg	16
40	<210> 325	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 325	
50	tcagcttact attagg	16
	<210> 326	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 326	
60	atctcagctt actattag	18
	<210> 327	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 327	
	ttcagcttac tattag	16
10	<210> 328	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 328	
20	cagatttcag cttact	16
	<210> 329	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 329	
	gactacaact agaggg	16
35	<210> 330	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 330	
45	agactacaac tagagg	16
	<210> 331	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 331	
	aagactacaa ctagag	16
	<210> 332	
60	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
65	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 332	
	atgatttaat tctagtcaaa	20
5	<210> 333 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 333	
	tttaattcta gtcaaa	16
20	<210> 334 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 334	
	gatttaattc tagtca	16
30	<210> 335 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 335	
40	atgatttaat tctagtca	18
45	<210> 336 <211> 19 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 336	
	gatgatttaa ttctagtca	19
55	<210> 337 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
60	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 337	

	gatttaattc tagtca	16
	<210> 338	
	<211> 18	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 338	
	gatgatttaa ttctagtc	18
15	<210> 339	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 339	
25	tgatttaatt ctagtc	16
	<210> 340	
	<211> 17	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 340	
	gagatgattt aattcta	17
40	<210> 341	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 341	
50	gagatgattt aattct	16
	<210> 342	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 342	
60	cagattgatg gtagtt	16
	<210> 343	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 343	
	ctcagattga tggtag	16
10	<210> 344	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 344	
20	gtagccctc agattg	16
	<210> 345	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 345	
	tgtattgta gccctc	16
35	<210> 346	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 346	
45	acttgattg ttagcc	16
	<210> 347	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 347	
	agccagtatc agggac	16
	<210> 348	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 348	
5	ttgacaatag tggcat	16
	<210> 349	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 349	
	acaagtggta tcttct	16
	<210> 350	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 350	
	aatctacttt acaagt	16
30	<210> 351	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 351	
40	cacagtagat gcctgata	18
	<210> 352	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 352	
	gaacacagta gatgcc	16
55	<210> 353	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 353	

	cttggAACac agtagat	17
	<210> 354	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 354	
	atatcttGga acacag	16
15	<210> 355	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 355	
25	tctttaatat cttGgaac	18
	<210> 356	
	<211> 19	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 356	
	tgatttcttt aatatcttg	19
40	<210> 357	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 357	
50	tgatgatttc tttAaatatc	19
	<210> 358	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 358	
60	aggctaagtc atgatg	16
	<210> 359	

	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 359	
10	ttgatgaggc taagtc	16
	<210> 360	
	<211> 16	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 360	
	ccaggattat actctt	16
	<210> 361	
25	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 361	
	gccaggatta tactct	16
35	<210> 362	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 362	
45	ctgccaggat tatact	16
	<210> 363	
	<211> 19	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 363	
	cagaaactta tactttatg	19
60	<210> 364	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
65	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 364	
5	aagcagaaac ttatact	17
	<210> 365	
	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 365	
	gaagcagaaa cttatact	18
	<210> 366	
20	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 366	
	tggaagcaga aacttatact	20
30	<210> 367	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 367	
40	tggaagcaga aacttatac	19
	<210> 368	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 368	
	aagcagaaac ttatac	16
55	<210> 369	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 369	

	tggaagcaga aacttata	18
	<210> 370	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 370	
	aagggatatt atggag	16
15	<210> 371	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 371	
25	tgccggaaga tttcct	16
	<210> 372	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 372	
	atggattggg agtaga	16
40	<210> 373	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 373	
	agatggattg ggagta	16
50	<210> 374	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 374	
60	aagatggatt gggagt	16
	<210> 375	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 375	
	acaagatgga ttggga	16
10	<210> 376	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 376	
20	agaaggttca gacttt	16
	<210> 377	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 377	
	gcagaaggtt cagact	16
35	<210> 378	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 378	
45	tgcagaaggt tcagac	16
	<210> 379	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 379	
	agtgcagaag gttcag	16
	<210> 380	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 380	
5	aagtgcagaa ggttca	16
	<210> 381	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 381	
	taagtgcaga aggttc	16
	<210> 382	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 382	
	tctaagtgca gaaggt	16
30	<210> 383	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 383	
40	ctcaggagtt ctacttc	17
	<210> 384	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 384	
	ctcaggagtt ctactt	16
55	<210> 385	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 385	

	atggaggtga ctcaggag	18
	<210> 386	
	<211> 17	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 386	
	atggaggtga ctcagga	17
15	<210> 387	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 387	
25	atggaggtga ctcagg	16
	<210> 388	
	<211> 17	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 388	
	tatggaggtg actcagg	17
	<210> 389	
40	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 389	
	atatggaggt gactcagg	18
50	<210> 390	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 390	
60	tatggaggtg actcag	16
	<210> 391	
	<211> 17	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 391	
	atatggaggt gactcag	17
10	<210> 392	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 392	
20	catatggagg tgactcag	18
	<210> 393	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 393	
	atatggaggt gactca	16
35	<210> 394	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 394	
45	catatggagg tgactca	17
	<210> 395	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 395	
	catatggagg tgactc	16
	<210> 396	
60	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 396	
5	gcatatggag gtgactc	17
	<210> 397	
	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 397	
	tgcatatgga ggtgactc	18
	<210> 398	
20	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 398	
	ttgcatatgg aggtgactc	19
30	<210> 399	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 399	
40	tttgcataatg gaggtgactc	20
	<210> 400	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 400	
	gcatatggag gtgactc	16
55	<210> 401	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 401	

	tgcatatgga ggtgact	17
	<210> 402	
	<211> 18	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 402	
	ttgcatatgg aggtgact	18
15	<210> 403	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 403	
25	tttgcatatg gaggtgact	19
	<210> 404	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 404	
	tgcatatgga ggtgac	16
40	<210> 405	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 405	
50	ttgcatatgg aggtgac	17
	<210> 406	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 406	
60	tttgcatatg gaggtgac	18
	<210> 407	
	<211> 17	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 407	
	tttgcatatg gaggtga	17
10	<210> 408	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 408	
20	tttgcatatg gaggtg	16
	<210> 409	
	<211> 17	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 409	
	aagtgaagtt caacagc	17
35	<210> 410	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 410	
45	tgggaagtga agttca	16
	<210> 411	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 411	
	atgggaagtg aagttc	16
	<210> 412	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 412	
5	gatgggaagt gaagtt	16
	<210> 413	
	<211> 17	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 413	
	ctgtgatggg aagtgaa	17
	<210> 414	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 414	
	attgagtgaa tccaaa	16
30	<210> 415	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 415	
40	aattgagtga atccaa	16
	<210> 416	
	<211> 17	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 416	
	gataattgag tgaatcc	17
55	<210> 417	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 417	

	gtgataattg agtgaa	16
	<210> 418	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 418	
	aagaaaggtg caataa	16
15	<210> 419	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 419	
25	caagaaaggt gcaata	16
	<210> 420	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 420	
	acaagaaagg tgcaat	16
40	<210> 421	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 421	
	atttaaactc acaaac	16
50	<210> 422	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 422	
60	ctgtagggt cagcga	16
	<210> 423	
	<211> 17	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 423	
	tctgaatgaa catttcg	17
10	<210> 424	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 424	
20	ctcattgaag gttctg	16
	<210> 425	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 425	
	ctaattctcat tgaagg	16
35	<210> 426	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 426	
45	cctaattctca ttgaag	16
	<210> 427	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 427	
	actttgatct ttcagc	16
	<210> 428	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 428	
5	actatgcaac actttg	16
	<210> 429	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 429	
	caaatagctt tatcgg	16
	<210> 430	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 430	
	ccaaatagct ttatcg	16
30	<210> 431	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 431	
40	tccaaatagc tttatc	16
	<210> 432	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 432	
	gatccaaata gcttta	16
55	<210> 433	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 433	

	atgatccaaa tagctt	16
	<210> 434	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 434	
	tatgatccaa atagct	16
15	<210> 435	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 435	
25	taaacagggc tgggaat	17
	<210> 436	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 436	
	acttaaacag ggctgg	16
40	<210> 437	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 437	
	acacttaaac agggct	16
50	<210> 438	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 438	
60	gaacacttaa acaggg	16
	<210> 439	
	<211> 17	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 439	
	agagaacact taaacag	17
10	<210> 440	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 440	
20	ctacagagaa cactta	16
	<210> 441	
	<211> 17	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 441	
	atgctacaga gaacact	17
35	<210> 442	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 442	
45	ataaatgcta cagagaaca	19
	<210> 443	
	<211> 18	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 443	
	agataaatgc tacagaga	18
	<210> 444	
60	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 444	
5	tagagataaa tgctaca	17
	<210> 445	
	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 445	
	tagatagaga taaatgct	18
	<210> 446	
20	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 446	
	caatatacta gatagaga	18
30	<210> 447	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 447	
40	tacacaatat actagatag	19
	<210> 448	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 448	
	ctacacaata tactag	16
55	<210> 449	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 449	

	gctacacaat atacta	16
	<210> 450	
	<211> 18	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 450	
	atatgctaca caatatac	18
15	<210> 451	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 451	
25	tgatatgcta cacaat	16
	<210> 452	
	<211> 17	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 452	
	atgatatgat atgctac	17
40	<210> 453	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 453	
50	gaggagagag acaataaa	18
	<210> 454	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 454	
60	ctaggaggag agagaca	17
	<210> 455	
	<211> 17	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 455	
	tattctagga ggagaga	17
10	<210> 456	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 456	
20	ttatattcta ggaggag	17
	<210> 457	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 457	
	gtttatattc taggag	16
35	<210> 458	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 458	
45	tggagtttat attctagg	18
	<210> 459	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 459	
	cgtaccacca ctctgc	16
	<210> 460	
60	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 460	
5	tgaggaaatc attcattc	18
	<210> 461	
	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 461	
	tttgaggaaa tcattcat	18
	<210> 462	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 462	
	aggctaatacc tatttg	16
30	<210> 463	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 463	
40	tttaggctaa tcctat	16
	<210> 464	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 464	
	tgctccagtg taccct	16
55	<210> 465	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 465	

	tagtagtact cgatag	16
	<210> 466	
	<211> 18	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
10	<400> 466	
	ctaattgtag tagtactc	18
15	<210> 467	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 467	
25	tgctaattgt agtagt	16
	<210> 468	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 468	
	agtgctaatt gtagta	16
40	<210> 469	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 469	
	gcaagtgcta attgta	16
50	<210> 470	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 470	
60	gaggaaatga actaattta	19
	<210> 471	
	<211> 17	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 471	
	caggaggaaa tgaacta	17
10	<210> 472	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 472	
20	ccctagagtc atttcc	16
	<210> 473	
	<211> 17	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 473	
	atcttacatg atgaagc	17
35	<210> 474	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 474	
45	gacacactca gatttcag	18
	<210> 475	
	<211> 19	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 475	
	agacacactc agatttcag	19
	<210> 476	
60	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 476	
5	aagacacact cagatttcag	20
	<210> 477	
	<211> 18	
10	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 477	
	agacacactc agatttca	18
	<210> 478	
20	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 478	
	aagacacact cagatttca	19
30	<210> 479	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 479	
40	aaagacacac tcagatttca	20
	<210> 480	
	<211> 20	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 480	
	gaaagacaca ctcagatttc	20
55	<210> 481	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 481	

	aagacacact cagatttc	18
	<210> 482	
	<211> 19	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 482	
	aaagacacac tcagatttc	19
15	<210> 483	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 483	
25	tgaaagacac actcagattt	20
	<210> 484	
	<211> 19	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 484	
	tgaaagacac actcagatt	19
40	<210> 485	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 485	
50	tgaaagacac actcagat	18
	<210> 486	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 486	
60	attgaaagac aactca	17
	<210> 487	
	<211> 17	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 487	
	tcattgaaag acacact	17
10	<210> 488	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 488	
20	ttccatcatt gaaaga	16
	<210> 489	
	<211> 17	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 489	
	ataataccac ttatcat	17
35	<210> 490	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 490	
45	ttacttaatt tctttgga	18
	<210> 491	
	<211> 18	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 491	
	ttagaactag ctttatca	18
	<210> 492	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
65	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 492	
5	gaggtacaaa tatagg	16
	<210> 493 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 493	
	cttatgatac aactta	16
20	<210> 494 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 494	
	tccttatgata caactt	16
30	<210> 495 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 495	
40	ttccttatgat acaact	16
45	<210> 496 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 496	
	cagtttctta tgatac	16
55	<210> 497 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
60	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 497	
	gcagtttctt atgata	16

5	<210> 498 <211> 19 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
10	<400> 498 tacaaatgtc tattaggtt	19
15	<210> 499 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 499 tgtacaaatg tctattag	18
25	<210> 500 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 500 agcatcacao ttagta	16
35	<210> 501 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
40	<400> 501 ctaatgatag tgaagc	16
45	<210> 502 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 502 agctaatgat agtgaa	16
55	<210> 503 <211> 16 <212> ADN	

	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
5	<400> 503	
	atgccttgac atatta	16
10	<210> 504	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 504	
20	ctcaagatta ttgacac	17
	<210> 505	
	<211> 16	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 505	
	acctcaagat tattga	16
35	<210> 506	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 506	
45	aacctcaaga ttattg	16
	<210> 507	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
50	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 507	
55	cacaaacctc aagattatt	19
	<210> 508	
	<211> 16	
60	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 508	
5	gtacttaatt agacct	16
	<210> 509	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 509	
15	agtacttaat tagacc	16
	<210> 510	
	<211> 16	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 510	
	gtatgaggtg gtaaac	16
30	<210> 511	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 511	
40	aggaaacagc agaagtg	17
	<210> 512	
	<211> 16	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 512	
	gcacaacca gagga	16
	<210> 513	
55	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 513	
	caagcacaac ccagag	16

5	<210> 514 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
10	<400> 514	
	ttcaagcaca acccag	16
15	<210> 515 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 515	
	aattcaagca caaccc	16
25	<210> 516 <211> 19 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 516	
	taataattca agcacaacc	19
35	<210> 517 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
40	<400> 517	
	actaataatt caagcac	17
45	<210> 518 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 518	
	ataatactaa taattcaagc	20
55	<210> 519 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
60		
65		

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
5	<400> 519		
	tagatttgtg aggtaa		16
10	<210> 520		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
15	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 520		
20	agccttaatt ctccat		16
	<210> 521		
	<211> 17		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 521		
30	aatgatctag agcctta		17
	<210> 522		
	<211> 16		
35	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
40	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 522		
	ctaatgatct agagcc		16
45	<210> 523		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 523		
55	actaatgatc tagagc		16
	<210> 524		
	<211> 18		
	<212> ADN		
60	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		

	<400> 524	
	cattaacatg ttcttatt	18
5	<210> 525 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 525	
15	acaagtacat taacatgttc	20
	<210> 526 <211> 19 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 526	
	ttacaagtac attaacatg	19
30	<210> 527 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 527	
40	gctttattca tgtttat	17
	<210> 528 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 528	
50	gctttattca tgttta	16
	<210> 529 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
60	<400> 529	
	agagctttat tcatgttt	18

5	<p><210> 530 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial</p>	
	<p><220> <223> Motivo de oligonucleótidos</p>	
10	<p><400> 530 ataagagctt tattcatg</p>	18
15	<p><210> 531 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial</p>	
20	<p><220> <223> Motivo de oligonucleótidos</p>	
	<p><400> 531 cataagagct ttattca</p>	17
25	<p><210> 532 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial</p>	
30	<p><220> <223> Motivo de oligonucleótidos</p>	
	<p><400> 532 agcataagag ctttat</p>	16
35	<p><210> 533 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial</p>	
40	<p><220> <223> Motivo de oligonucleótidos</p>	
45	<p><400> 533 tagattgttt agtgca</p>	16
50	<p><210> 534 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial</p>	
55	<p><220> <223> Motivo de oligonucleótidos</p>	
	<p><400> 534 gtagattggt tagtgc</p>	16
60	<p><210> 535 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial</p>	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
5	<400> 535		
	gacaattcta gtagatt		17
	<210> 536		
10	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
15	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 536		
	ctgacaattc tagtag		16
20	<210> 537		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 537		
30	gctgacaatt ctagta		16
	<210> 538		
	<211> 16		
35	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 538		
	aggattaaga tacgta		16
45	<210> 539		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 539		
55	caggattaag atacgt		16
	<210> 540		
	<211> 16		
	<212> ADN		
60	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
65	<400> 540		

	tcaggattaa gatacg	16
5	<210> 541 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 541	
15	ttcaggatta agatac	16
20	<210> 542 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 542	
30	aggaagaaag tttgattc	18
35	<210> 543 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 543	
45	tcaaggaaga aagtttga	18
50	<210> 544 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 544	
60	ctcaaggaag aaagtttg	18
65	<210> 545 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 545	
75	tgctcaagga agaaagt	17
80	<210> 546	

	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 546	
10	aattatgctc aaggaaga	18
	<210> 547	
	<211> 18	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 547	
	taggatacca cattatga	18
	<210> 548	
25	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 548	
	cataatttat tccattcctc	20
35	<210> 549	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 549	
45	tgcataattt attccat	17
	<210> 550	
	<211> 17	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 550	
	actgcataat ttattcc	17
60	<210> 551	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 551		
5	ctaaactgca taatttatt		19
	<210> 552		
	<211> 16		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15	<400> 552		
	ataactaaac tgcata		16
20	<210> 553		
	<211> 19		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 553		
30	ttattaataa ctaaactgc		19
	<210> 554		
	<211> 19		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 554		
	tagtacatta ttaataact		19
	<210> 555		
45	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
50	<400> 555		
	cataactaag gacggt		16
55	<210> 556		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 556		

	tcataactaa ggacgt	16
5	<210> 557 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 557	
15	cgtcataact aaggac	16
20	<210> 558 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 558	
30	tcgtcataac taagga	16
35	<210> 559 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 559	
45	atcgtcataa ctaagg	16
50	<210> 560 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 560	
60	gtagtatct tacatt	16
65	<210> 561 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 561	
75	ctctattggt agtattc	16
80	<210> 562	

	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 562	
10	agtatagagt tactgt	16
	<210> 563	
	<211> 16	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 563	
	ttcctggtga tacttt	16
	<210> 564	
25	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 564	
	gttcctggtg atactt	16
35	<210> 565	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 565	
45	tgttcctggt gatact	16
	<210> 566	
	<211> 18	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 566	
	ataaacatga atctctcc	18
60	<210> 567	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 567		
5		ctttataaac atgaatctc	19
	<210> 568		
	<211> 17		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15		<400> 568	
		ctgtctttat aaacatg	17
20	<210> 569		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 569		
30		ttgttataaa tctgtctt	18
	<210> 570		
	<211> 19		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40		<400> 570	
		ttaaatttat tcttgata	19
45	<210> 571		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
50	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 571		
		cttaaattta ttcttgga	18
55	<210> 572		
	<211> 19		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 572		

	cttcttaaatt ttattcttg	19
5	<210> 573 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 573	
15	tatgtttctc agtaaag	17
20	<210> 574 <211> 17 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 574	
30	gaattatctt taaacca	17
35	<210> 575 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 575	
45	cccttaaatt tctaca	16
50	<210> 576 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 576	
60	acactgctct tgtacc	16
65	<210> 577 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
70	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos <400> 577	
75	tgacaacact gctctt	16
80	<210> 578	

	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 578	
10	tacatttatt gggctc	16
	<210> 579	
	<211> 16	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 579	
	gtacatttat tgggct	16
	<210> 580	
25	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 580	
	ttggtacatt tattgg	16
35	<210> 581	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 581	
45	catgttgga catttat	17
	<210> 582	
	<211> 16	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 582	
	aatcatggtg gtacat	16
60	<210> 583	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
65	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 583	
5	aaatcatggtt ggtaca	16
	<210> 584	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 584	
	gacaagtttg gattaa	16
	<210> 585	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 585	
	aatgttcaga tgcctc	16
30	<210> 586	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 586	
40	gcttaatggtt cagatg	16
	<210> 587	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 587	
	cgtacatagc ttgatg	16
55	<210> 588	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 588	

	gtgaggaatt aggata	16
	<210> 589	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 589	
	gtaacaatat ggtttg	16
15	<210> 590	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 590	
25	gaaatattgt agacta	16
	<210> 591	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 591	
	ttgaaatatt gtagac	16
40	<210> 592	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 592	
50	aagtctagta atttgc	16
	<210> 593	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 593	
60	gctcagtaga ttataa	16
	<210> 594	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 594	
	catacactgt tgctaa	16
10	<210> 595	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 595	
20	atggtctcaa atcatt	16
	<210> 596	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 596	
	caatggtctc aatca	16
35	<210> 597	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 597	
45	ttcctattga ttgact	16
	<210> 598	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 598	
	tttctgttca caacac	16
60	<210> 599	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 599	
5	aggaacccac taatct	16
	<210> 600	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 600	
	taaatggcag gaaccc	16
	<210> 601	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 601	
	gtaaattggca ggaacc	16
30	<210> 602	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 602	
40	ttgtaaattgg caggaa	16
	<210> 603	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 603	
	ttatgagtta ggcattg	16
55	<210> 604	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 604	

	ccaggtgaaa ctttaa	16
	<210> 605	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 605	
	cccttagtca gctcct	16
15	<210> 606	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 606	
25	acccttagtc agctcc	16
	<210> 607	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 607	
	cacccttagt cagctc	16
	<210> 608	
40	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 608	
	tctcttacta ggctcc	16
50	<210> 609	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 609	
60	cctatctgtc atcatg	16
	<210> 610	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 610	
	tcctatctgt catcat	16
10	<210> 611	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 611	
20	gagaagtgtg agaagc	16
	<210> 612	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 612	
	catccttgaa gtttag	16
35	<210> 613	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 613	
45	taataagatg gctccc	16
	<210> 614	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 614	
	caaggcataa taagat	16
	<210> 615	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 615	
5	ccaaggcata ataaga	16
	<210> 616	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 616	
	tgatccaatt ctcacc	16
	<210> 617	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 617	
	atgatccaat tctcac	16
30	<210> 618	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 618	
40	cgcttcatct tcaccc	16
	<210> 619	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 619	
	tatgacactg catctt	16
55	<210> 620	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 620	

	gtatgacact gcatct	16
	<210> 621	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 621	
	tgtatgacac tgcac	16
15	<210> 622	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 622	
25	ttctcttctg taagtc	16
	<210> 623	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 623	
	ttctacagag gaacta	16
40	<210> 624	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 624	
50	actacagttc tacaga	16
	<210> 625	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 625	
60	ttcccacagg taaatg	16
	<210> 626	
	<211> 20	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 626	
	attatttgaa tataactcatt	20
10	<210> 627	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 627	
20	tgggaggaaa ttatttg	17
	<210> 628	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 628	
	tgactcatct taaatg	16
35	<210> 629	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 629	
45	ctgactcatc ttaa	16
	<210> 630	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 630	
	tttactctga ctcac	16
	<210> 631	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 631	
5	tattggagga attatt	16
	<210> 632	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 632	
	gtattggagg aattat	16
	<210> 633	
20	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 633	
	tggtatactt ctctaagtat	20
30	<210> 634	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 634	
40	gatctcttgg tataact	16
	<210> 635	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 635	
	cagacaactc tatacc	16
55	<210> 636	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 636	

	aacatcagac aactcta	17
	<210> 637	
	<211> 18	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 637	
	tttaacatca gacaactc	18
15	<210> 638	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 638	
25	taacatcaga caactc	16
	<210> 639	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 639	
	atttaacatc agacaa	16
	<210> 640	
40	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 640	
	cctatttaac atcagac	17
50	<210> 641	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 641	
60	tccctattta acatca	16
	<210> 642	
	<211> 17	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 642	
	tcaacgacta ttggaat	17
10	<210> 643	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 643	
20	cttatattct ggctat	16
	<210> 644	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 644	
	atccttatat tctggc	16
35	<210> 645	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 645	
45	gatccttata ttctgg	16
	<210> 646	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 646	
	tgatccttat attctg	16
	<210> 647	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
65	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 647	
5	attgaaactt gatcct	16
	<210> 648	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 648	
	actgtcattg aaactt	16
	<210> 649	
	<211> 16	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
25	<400> 649	
	tcttactgtc attgaa	16
30	<210> 650	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 650	
40	aggatcttac tgtcatt	17
	<210> 651	
	<211> 16	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 651	
	gcaaatcaac tccatc	16
	<210> 652	
55	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 652	

	gtgcaaatca actcca	16
	<210> 653	
	<211> 17	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 653	
	caattatttc tttgtgc	17
15	<210> 654	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 654	
25	tggcaacaat tatttctt	18
	<210> 655	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 655	
	gctggcaaca attatt	16
	<210> 656	
40	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 656	
	atccatttct actgcc	16
50	<210> 657	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 657	
60	taatattctat tgatttcta	19
	<210> 658	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 658	
	tcaatagtgt agggca	16
10	<210> 659	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 659	
20	ttcaatagt tagggc	16
	<210> 660	
	<211> 19	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 660	
	aggttaatta attcaatag	19
35	<210> 661	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 661	
45	catttgtaat ccctag	16
	<210> 662	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 662	
	acatttgtaa tcccta	16
	<210> 663	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 663	
5	aacatttgta atccct	16
	<210> 664	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 664	
	taaatttcaa gttctg	16
	<210> 665	
20	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 665	
	gtttaaattt caagttct	18
30	<210> 666	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 666	
40	ccaagtttaa atttcaag	18
	<210> 667	
	<211> 17	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 667	
	acccaagttt aaatttc	17
55	<210> 668	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 668	

	catacagtga cccaagttt	19
	<210> 669	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 669	
	acatcccata cagtga	16
15	<210> 670	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 670	
25	agcacagctc tacatc	16
	<210> 671	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 671	
	atatagcaca gctcta	16
40	<210> 672	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 672	
50	tccatatagc acagct	16
	<210> 673	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 673	
60	atttccatat agcaca	16
	<210> 674	

	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 674	
10	tttattttcca tatagca	17
	<210> 675	
	<211> 16	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 675	
	tttattttcca tatagc	16
	<210> 676	
25	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 676	
	aaggagagga gattatg	17
35	<210> 677	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 677	
45	agttcttgtg ttagct	16
	<210> 678	
	<211> 16	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 678	
	gagttcttgt gtagc	16
60	<210> 679	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
65	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 679	
5	attaattatc catccac	17
	<210> 680	
	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 680	
	atcaattaat tatccatc	18
	<210> 681	
20	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 681	
	agaatcaatt aattatcc	18
30	<210> 682	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 682	
40	tgagataccg tgcattg	16
	<210> 683	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 683	
	aatgagatac cgtgca	16
55	<210> 684	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 684	

	ctgtggttag gctaata	16
	<210> 685	
	<211> 20	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 685	
	aagagtaagg gtctgtggtt	20
15	<210> 686	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 686	
25	gatgggttaa gagtaa	16
	<210> 687	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 687	
	agcagatggg ttaaga	16
40	<210> 688	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 688	
	tgtaaacatt tgtagc	16
50	<210> 689	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 689	
60	cctgcttata aatgta	16
	<210> 690	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 690	
	tgccctgctt ataaat	16
10	<210> 691	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 691	
20	tcttcttagt tcaata	16
	<210> 692	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 692	
	tggtttctaa ctacat	16
35	<210> 693	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 693	
45	agtttggttt ctaacta	17
	<210> 694	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 694	
	gaatgaaact tgcttg	16
	<210> 695	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	

	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 695	
5	attatcctta catgat	16
	<210> 696	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 696	
	gtaccaatt atcctt	16
	<210> 697	
20	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
25	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 697	
	tgtaccaat taccct	16
30	<210> 698	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
35	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 698	
40	ttgtaccxaa ttatcc	16
	<210> 699	
	<211> 16	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 699	
	tttgtaccxa attatc	16
55	<210> 700	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 700	

	agcagcaggt tatatt	16
	<210> 701	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 701	
	tgggaagtgg tctggg	16
15	<210> 702	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 702	
25	ctggagagtg ataata	16
	<210> 703	
	<211> 16	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 703	
	aatgctggat tacgtc	16
40	<210> 704	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
45	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 704	
50	caatgctgga ttacgt	16
	<210> 705	
	<211> 16	
	<212> ADN	
55	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 705	
60	ttgttcagaa gtatcc	16
	<210> 706	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 706	
	gatgatttgc ttggag	16
10	<210> 707	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 707	
20	gaaatcattc acaacc	16
	<210> 708	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 708	
	ttgtaacatc tactac	16
35	<210> 709	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 709	
45	cattaagcag caagtt	16
	<210> 710	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 710	
	ttactagatg tgagca	16
	<210> 711	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
65	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 711	
5	tttactagat gtgagc	16
	<210> 712 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 712	
	gaccaagcac cttaca	16
20	<210> 713 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 713	
	agaccaagca ccttac	16
30	<210> 714 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 714	
40	atgggttaaa taaag	16
45	<210> 715 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
50	<400> 715	
	tcaaccagag tatta	16
55	<210> 716 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
60	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 716	
	gtcaaccaga gtatta	16

	<210> 717	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 717	
10	attgtaaagc tgatat	16
	<210> 718	
	<211> 16	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 718	
	cacataattg taaagc	16
25	<210> 719	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 719	
35	gaggctctgct atttac	16
	<210> 720	
	<211> 16	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
45	<400> 720	
	tgtagattca atgcct	16
	<210> 721	
50	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
55	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 721	
	cctcattata ctatga	16
60	<210> 722	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
5	<400> 722		
	ccttatgcta tgacac		16
	<210> 723		
10	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
15	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 723		
	tccttatgct atgaca		16
20	<210> 724		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 724		
30	aagatgttta agtata		16
	<210> 725		
	<211> 16		
35	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 725		
	ctgattatta agatgt		16
45	<210> 726		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 726		
55	tggaaaggta tgaatt		16
	<210> 727		
	<211> 16		
	<212> ADN		
60	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		

	<400> 727		
	acttgaatgg cttgga		16
5	<210> 728 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 728		
15	aacttgaatg gcttgg		16
	<210> 729 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
20	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
25	<400> 729		
	caatgtgtta ctattt		16
30	<210> 730 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 730		
40	acaatgtggtt actatt		16
	<210> 731 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
45	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 731		
50	catctgctat ataaga		16
	<210> 732 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
55	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos		
60	<400> 732		
	cctagagcaa atactt		16
65	<210> 733		

	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 733	
10	cagagttaat aataag	16
	<210> 734	
	<211> 16	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
20	<400> 734	
	gttcaagcac aacgaa	16
	<210> 735	
25	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 735	
	agggttcaag cacaac	16
35	<210> 736	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 736	
45	tgttggagac actggt	16
	<210> 737	
	<211> 16	
50	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 737	
	aaggaggagt taggac	16
60	<210> 738	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 738		
5	ctatgccatt tacgat		16
	<210> 739		
	<211> 16		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
15	<400> 739		
	tcaaatgcag aattag		16
20	<210> 740		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 740		
30	agtgacaatc aaatgc		16
	<210> 741		
	<211> 16		
	<212> ADN		
35	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
40	<400> 741		
	aagtgacaat caaatg		16
	<210> 742		
45	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
50	<400> 742		
	gtgtaccaag taacaa		16
55	<210> 743		
	<211> 16		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
60	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 743		
65			

	tgggatgtta aactga	16
	<210> 744	
	<211> 16	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
10	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 744	
	agtttacatt ttctgc	16
15	<210> 745	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
20	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 745	
25	tatgtgaaga ggagag	16
	<210> 746	
	<211> 16	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
35	<400> 746	
	cacctttaa acccca	16
40	<210> 747	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 747	
50	tcctttataa tcacac	16
	<210> 748	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
55	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 748	
60	acggtatttt cacagg	16
	<210> 749	
	<211> 16	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
5	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 749	
	gacactacaa tgagga	16
10	<210> 750	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 750	
20	tggttttttag gactgt	16
	<210> 751	
	<211> 16	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
30	<400> 751	
	cgacaaattc tatect	16
35	<210> 752	
	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 752	
45	tgatatacaa tgctac	16
	<210> 753	
	<211> 16	
	<212> ADN	
50	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Motivo de oligonucleótidos	
55	<400> 753	
	tcgttgggta aattta	16
	<210> 754	
60	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
65	<223> Motivo de oligonucleótidos	

	<400> 754	
5	tgctttataa atggtg	16
	<210> 755 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
15	<400> 755	
	caagtttaca ttttctgc	18
20	<210> 756 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 756	
	catatgtgaa gaggagag	18
30	<210> 757 <211> 16 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 757	
40	cacctttaaa acccca	16
45	<210> 758 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 758	
	catcctttat aatcacac	18
55	<210> 759 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
60	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 759	
	caacggtatt ttcacagg	18

5	<210> 760 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
10	<400> 760	
	cagacactac aatgagga	18
15	<210> 761 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 761	
25	catggttttt aggactgt	18
30	<210> 762 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 762	
40	cacgacaaat tctatcct	18
45	<210> 763 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 763	
55	catgatatac aatgctac	18
60	<210> 764 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
65	<220> <223> Motivo de oligonucleótidos	
	<400> 764	
70	catcgttggg taaattta	18
75	<210> 765 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
5	<400> 765		
	catgctttat aaatggtg		18
	<210> 766		
10	<211> 20		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
15	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 766		
	caacaaataa tggttactct		20
20	<210> 767		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
25	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 767		
30	cacagattga tggtagtt		18
	<210> 768		
	<211> 19		
35	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
40	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 768		
	cacctattta acatcagac		19
45	<210> 769		
	<211> 20		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
50	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		
	<400> 769		
55	cactaattgt agtagtactc		20
	<210> 770		
	<211> 20		
	<212> ADN		
60	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Motivo de oligonucleótidos		

<400> 770

caataaacat gaatctctcc 20

5 <210> 771
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Motivo de oligonucleótidos

<400> 771

15 **tgatttaatt ctagtca** 17

<210> 772
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial

20 <220>
 <223> secuencia diana

25 <400> 772

gcagtagagc caatta 16

<210> 773
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Epitopo del VHB

35 <400> 773

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val
 1 5 10

40 <210> 774
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Epitopo del VHB

<400> 774

50 **Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp**
 1 5 10 15

<210> 775
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Epitopo del VHB

60 <400> 775

ES 2 857 702 T3

Thr Thr Phe His Gln Thr Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu
1 5 10 15

5 <210> 776
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Epitopo del VHB

<400> 776

Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser
1 5 10 15

15 <210> 777
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Epitopo del VHB

<400> 777

25 **Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile**
1 5

30 <210> 778
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Epitopo del VHB

<400> 778

Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu Gly Gln
1 5 10 15

40 <210> 779
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> Epitopo del VHB

<400> 779

50 **Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu**
1 5

55 <210> 780
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<210> 785
<211> 24
<212> ADN
5 <213> Artificial

<220>
<223> Cebador

10 <400> 785

aaggaaagaa gtcagaaggc aaaa

24

<210> 786
15 <211> 25
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
20 <223> cebador

<400> 786

ttctttataa gggtcgatgt ccatg

25

25

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un oligonucleótido antisentido de fórmula C C t a t t a a c a t c A G A C , en el que las letras mayúsculas representan nucleósidos de beta-D-oxi LNA, las letras minúsculas representan nucleósidos de ADN, todos los LNA C son 5-metilcitosina y todos los enlaces internucleosídicos son enlaces internucleosídicos de fosfortioato.
2. Un conjugado de oligonucleótidos antisentido que comprende el oligonucleótido de la reivindicación 1 y un resto de conjugado unido covalentemente a dicho oligonucleótido.
- 10 3. El conjugado de oligonucleótidos antisentido de la reivindicación 2, en el que está presente un conector entre el oligonucleótido y el resto de conjugado.
4. El conjugado de oligonucleótidos antisentido de la reivindicación 2 o la reivindicación 3, en el que el resto de conjugado es un resto dirigido al receptor para la asialoglicoproteína.
- 15 5. El conjugado de oligonucleótidos antisentido de la reivindicación 4, en el que el resto dirigido al receptor para la asialoglicoproteína es un resto de N-acetilgalactosamina trivalente (GalNAc).
- 20 6. El conjugado de oligonucleótidos antisentido de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que el conector es un conector fisiológicamente lábil.
7. El conjugado de oligonucleótidos antisentido de la reivindicación 6, en el que el conector fisiológicamente lábil es un conector susceptible a las nucleasas.
- 25 8. El conjugado de oligonucleótidos antisentido de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en el que el conector fisiológicamente lábil comprende un dinucleótido de citidina-adenosina.
9. El conjugado de oligonucleótidos antisentido de la reivindicación 2, en el que está presente un conector entre el oligonucleótido y el resto de conjugado; en el que además el resto de conjugado comprende un resto dirigido al receptor para la asialoglicoproteína que es un resto de N-acetilgalactosamina trivalente (GalNAc); en el que el conector es un conector fisiológicamente lábil; en el que además el conector fisiológicamente lábil comprende un dinucleótido de citidina-adenosina.
- 30 10. Una composición farmacéutica que comprende el oligonucleótido antisentido de la reivindicación 1 o el conjugado de oligonucleótidos antisentido de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9 y un diluyente, disolvente, vehículo, sal y/o adyuvante farmacéuticamente aceptables.
- 35 11. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el diluyente farmacéuticamente aceptable es solución salina tamponada con fosfato estéril.
- 40 12. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10 o la reivindicación 11, en la que la sal farmacéuticamente aceptable es sodio.
- 45 13. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10 o la reivindicación 11, en la que la sal farmacéuticamente aceptable es potasio.
- 50 14. Un procedimiento *in vitro* para modular la expresión de PD-L1 en una célula diana que está expresando el PD-L1, comprendiendo dicho procedimiento administrar el oligonucleótido antisentido de la reivindicación 1, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9 o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13 en una cantidad eficaz a dicha célula.
- 55 15. El oligonucleótido antisentido de la reivindicación 1, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9 o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13 para su uso en el restablecimiento de la respuesta inmunitaria contra un virus.
- 60 16. El oligonucleótido antisentido, el conjugado de oligonucleótidos antisentido o la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el virus es el VHB.
17. El oligonucleótido antisentido de la reivindicación 1, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9 o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13 para su uso en el restablecimiento de la respuesta inmunitaria contra un parásito.
- 65 18. El oligonucleótido antisentido, el conjugado de oligonucleótidos antisentido o la composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 16, en el que el restablecimiento de la respuesta inmunitaria es un incremento en el hígado de los linfocitos T CD8+ específicos para uno o más antígenos del VHB en comparación con un control.

19. El oligonucleótido antisentido de la reivindicación 1, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9 o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13 para su uso como medicamento.

5

20. El oligonucleótido antisentido de la reivindicación 1, el conjugado de oligonucleótidos antisentido de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9 o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 10 a 13 para su uso en el tratamiento de la infección por el VHB.

Figura 1

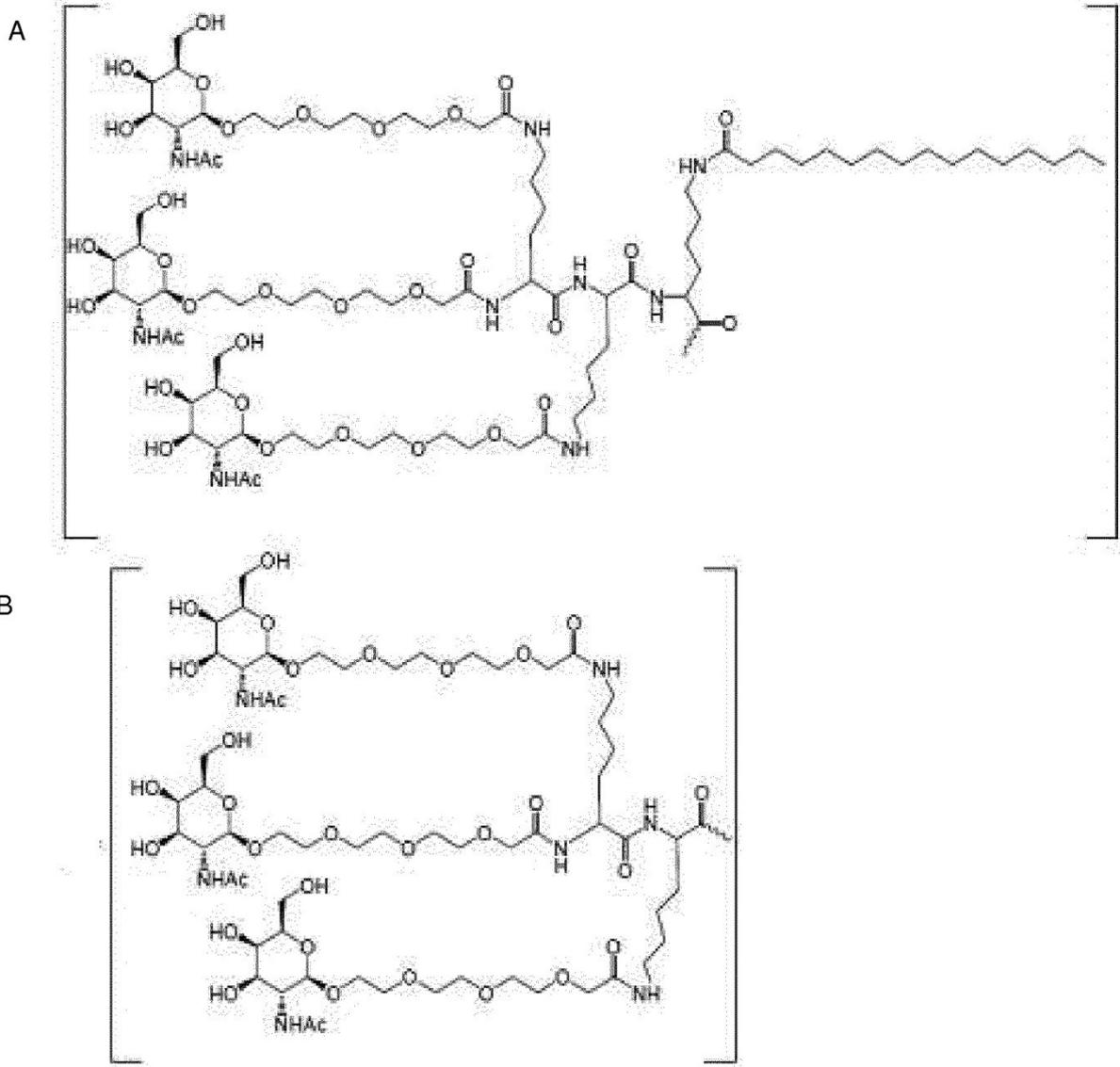


Figura 1 (cont.)

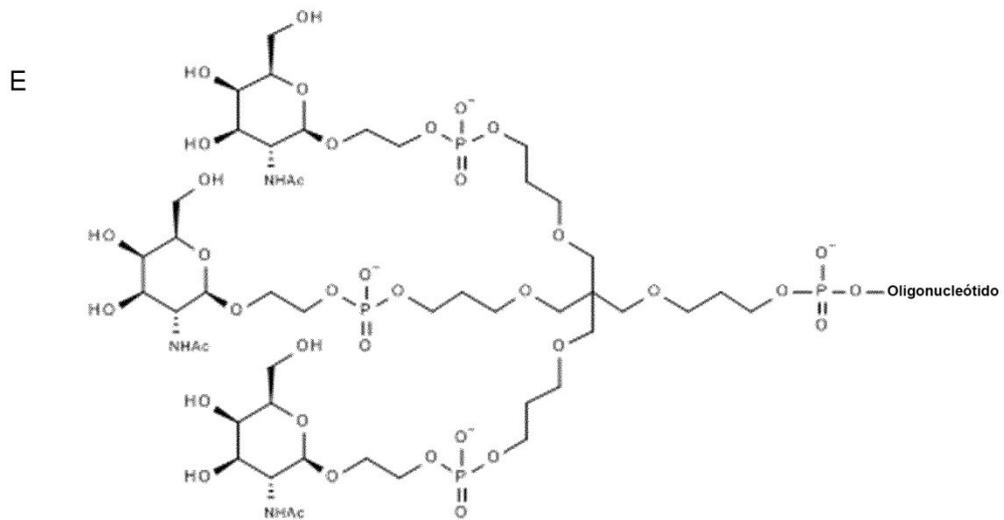
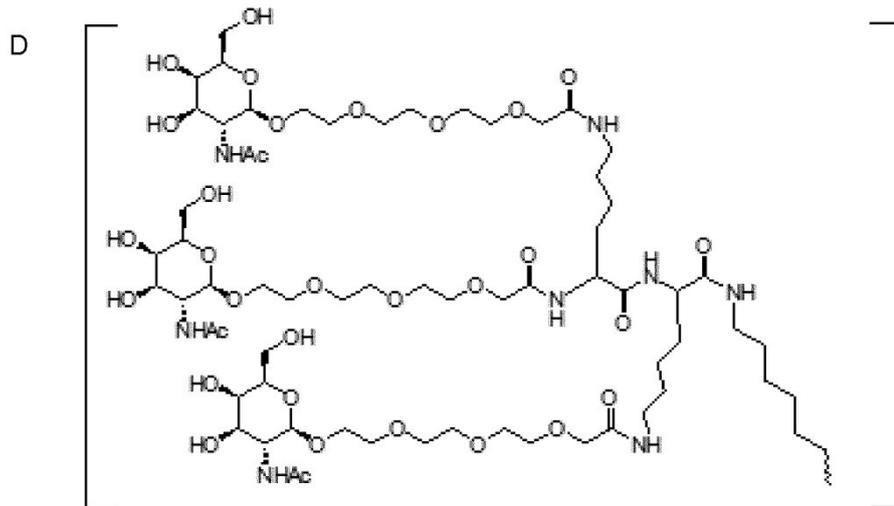
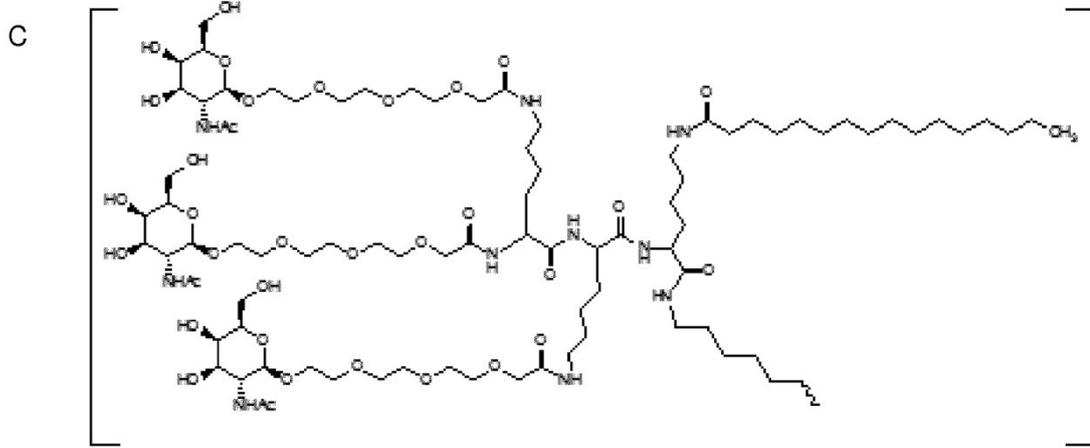


Figura 1 (cont.)

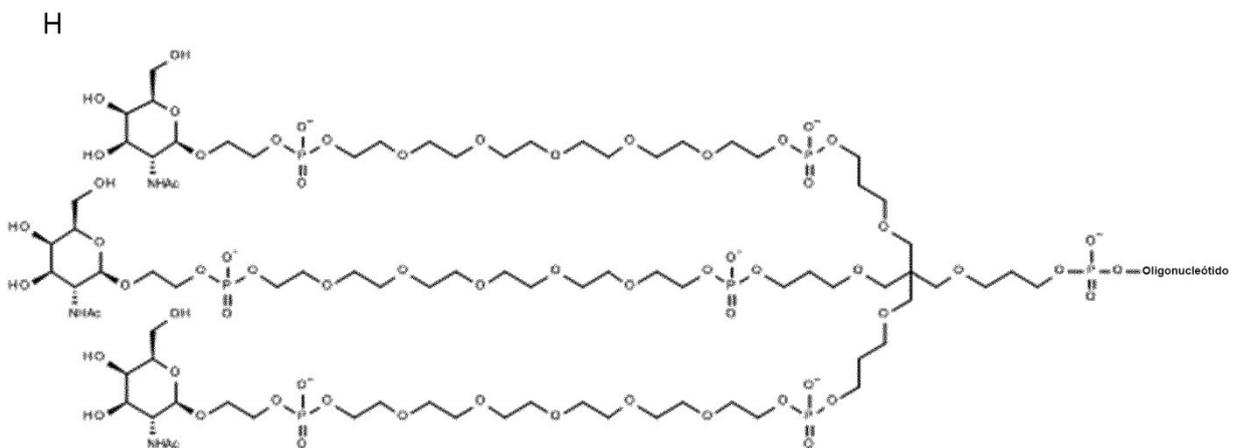
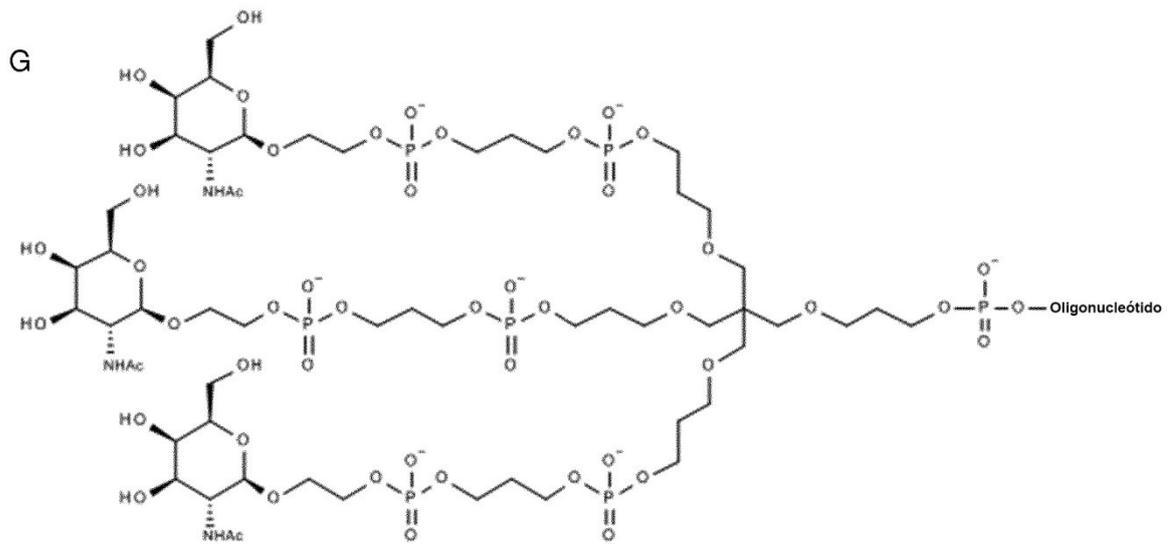
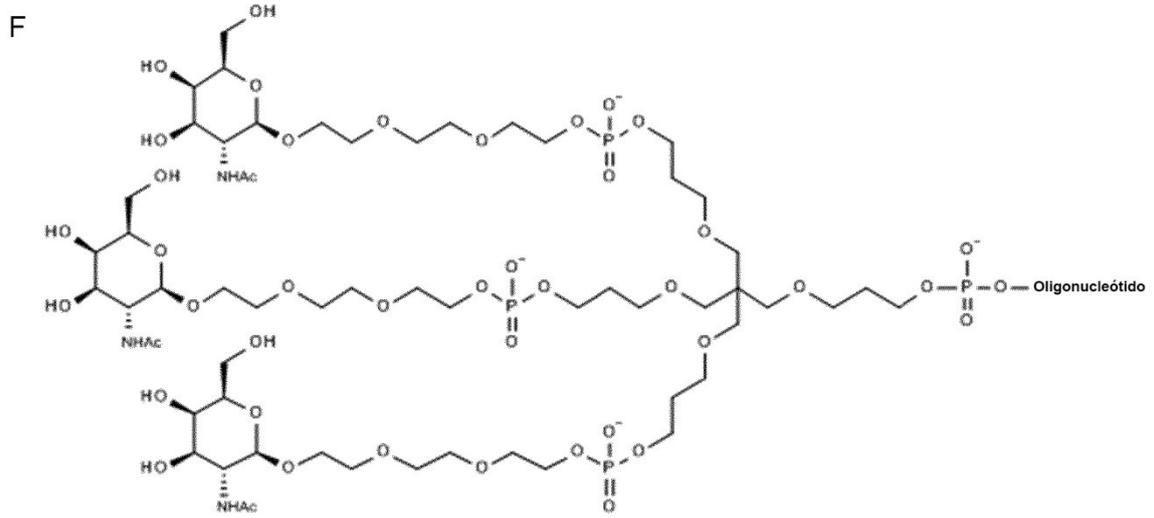


Figura 1 (cont.)

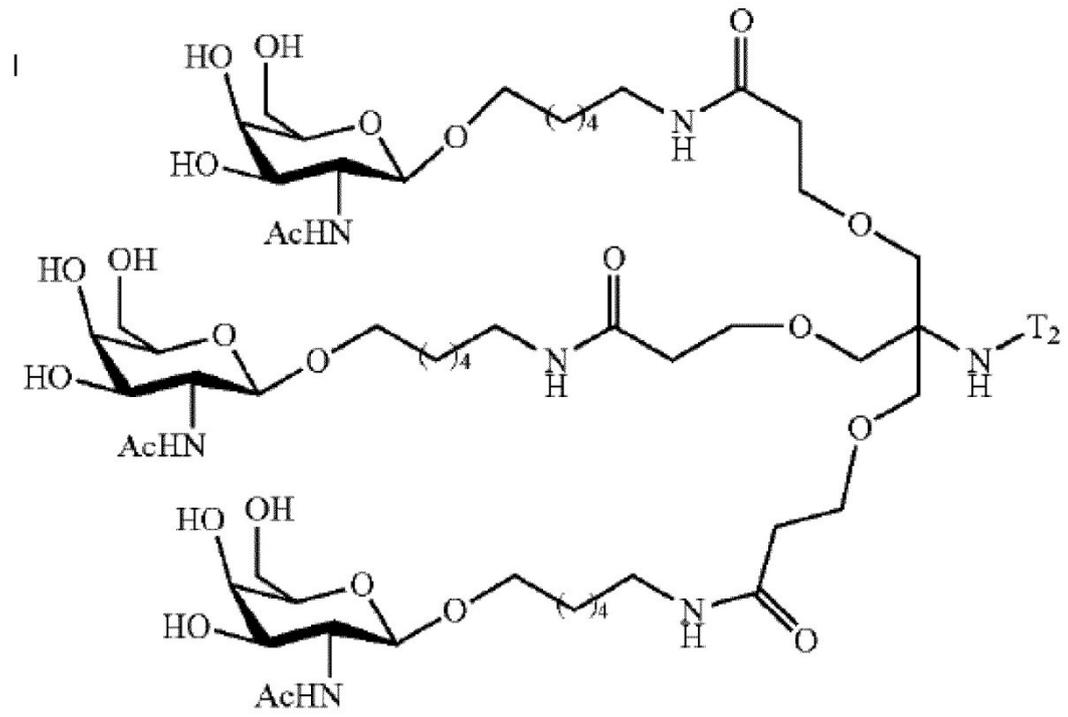


Figura 2

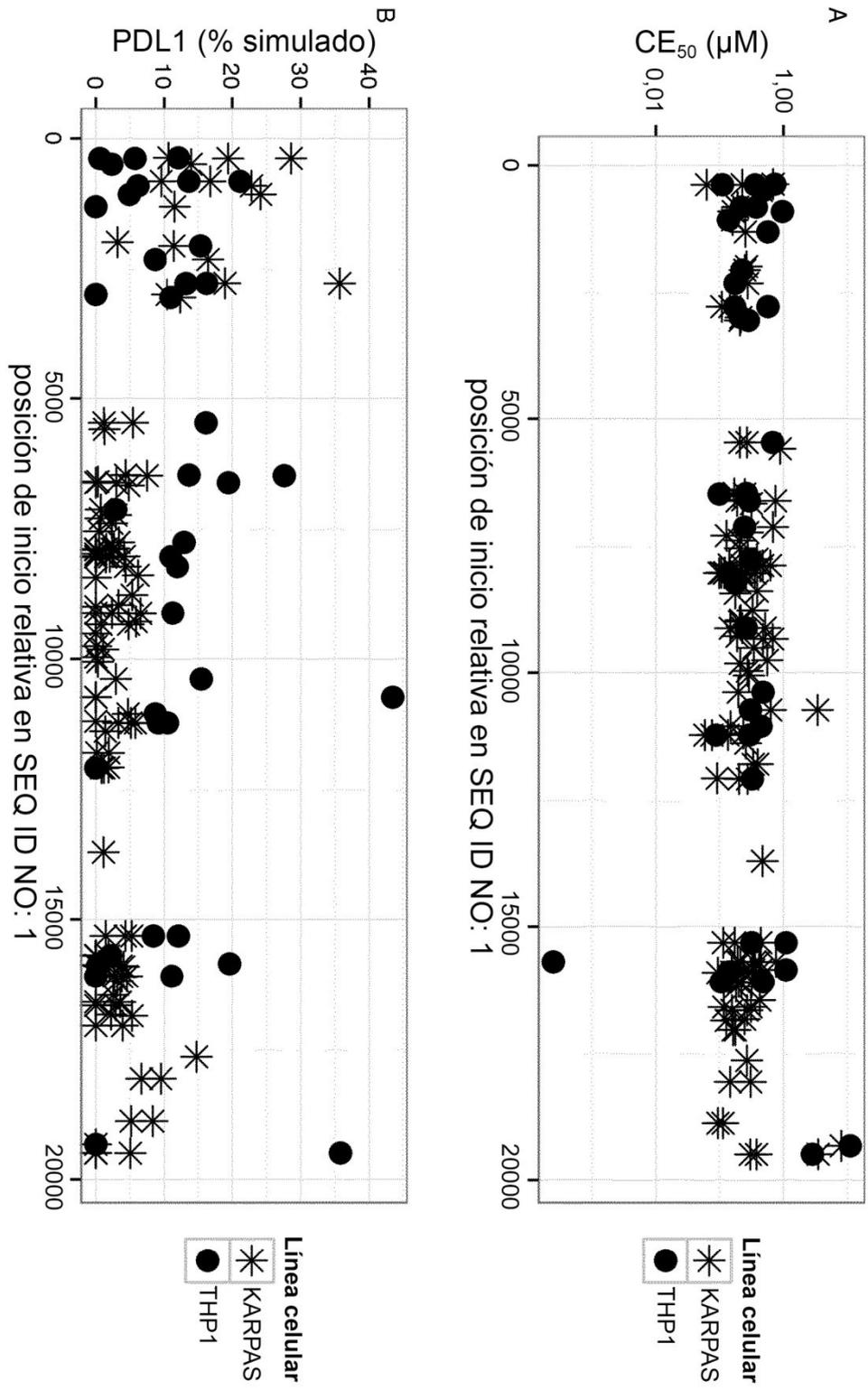


Figura 3

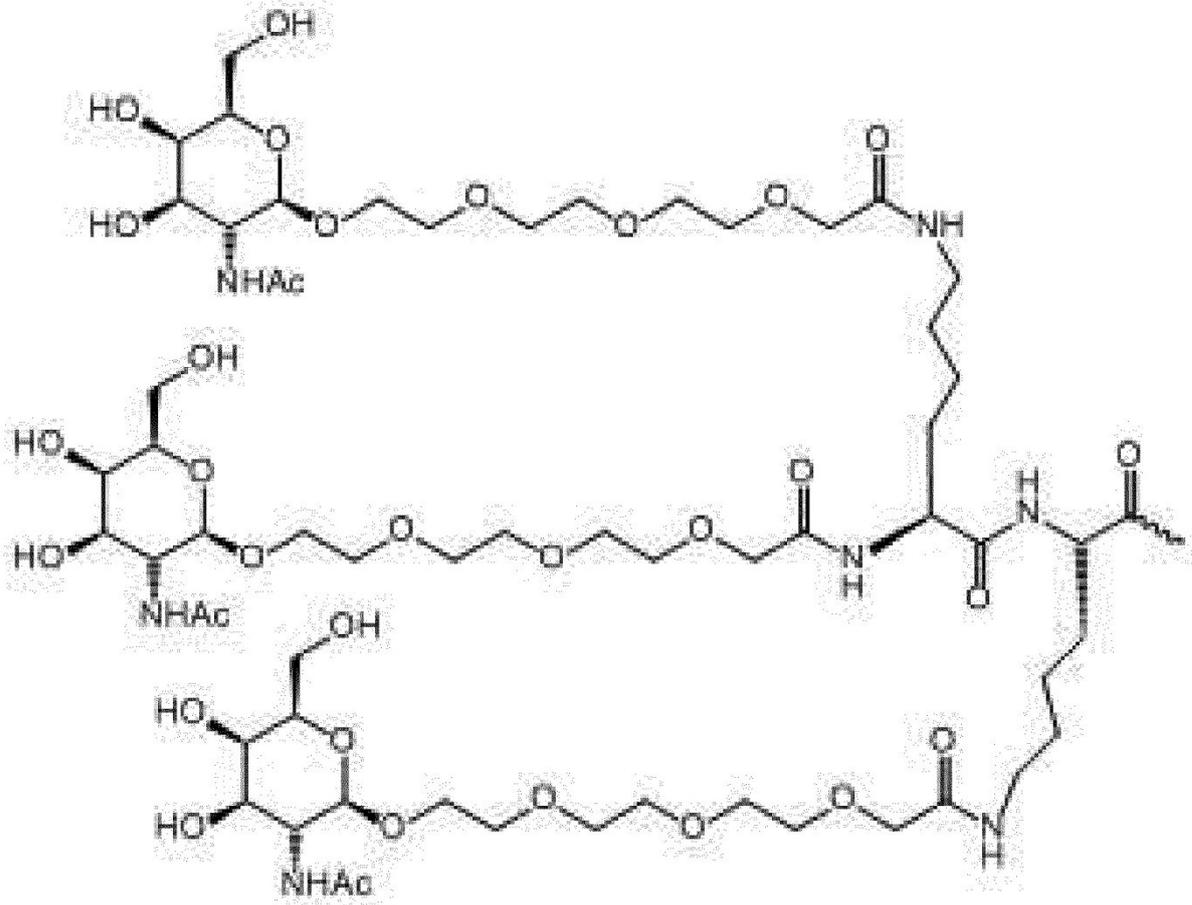


Figura 4
 CMP ID NO 766_2

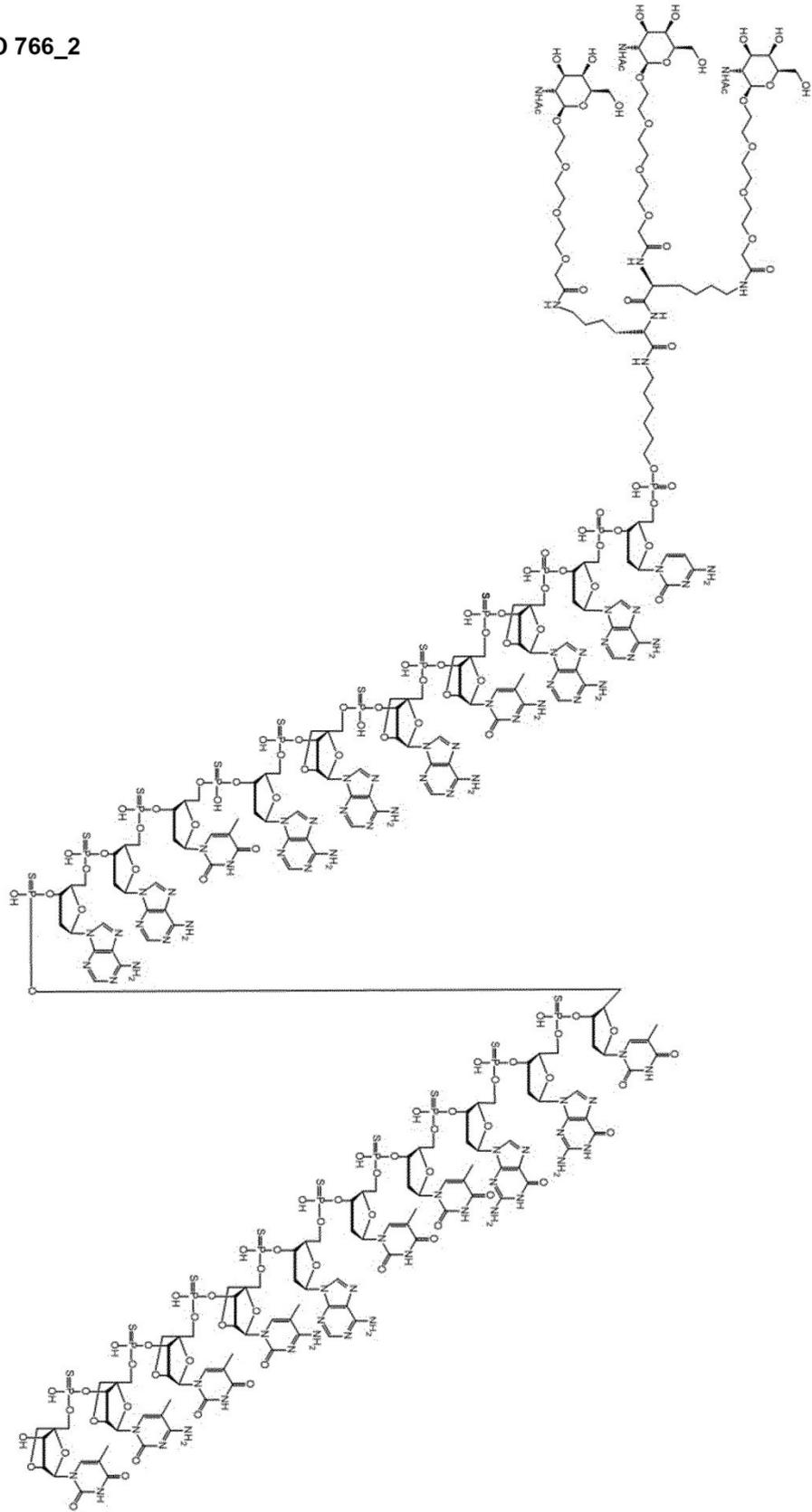


Figura 5
CMP ID NO 767_2

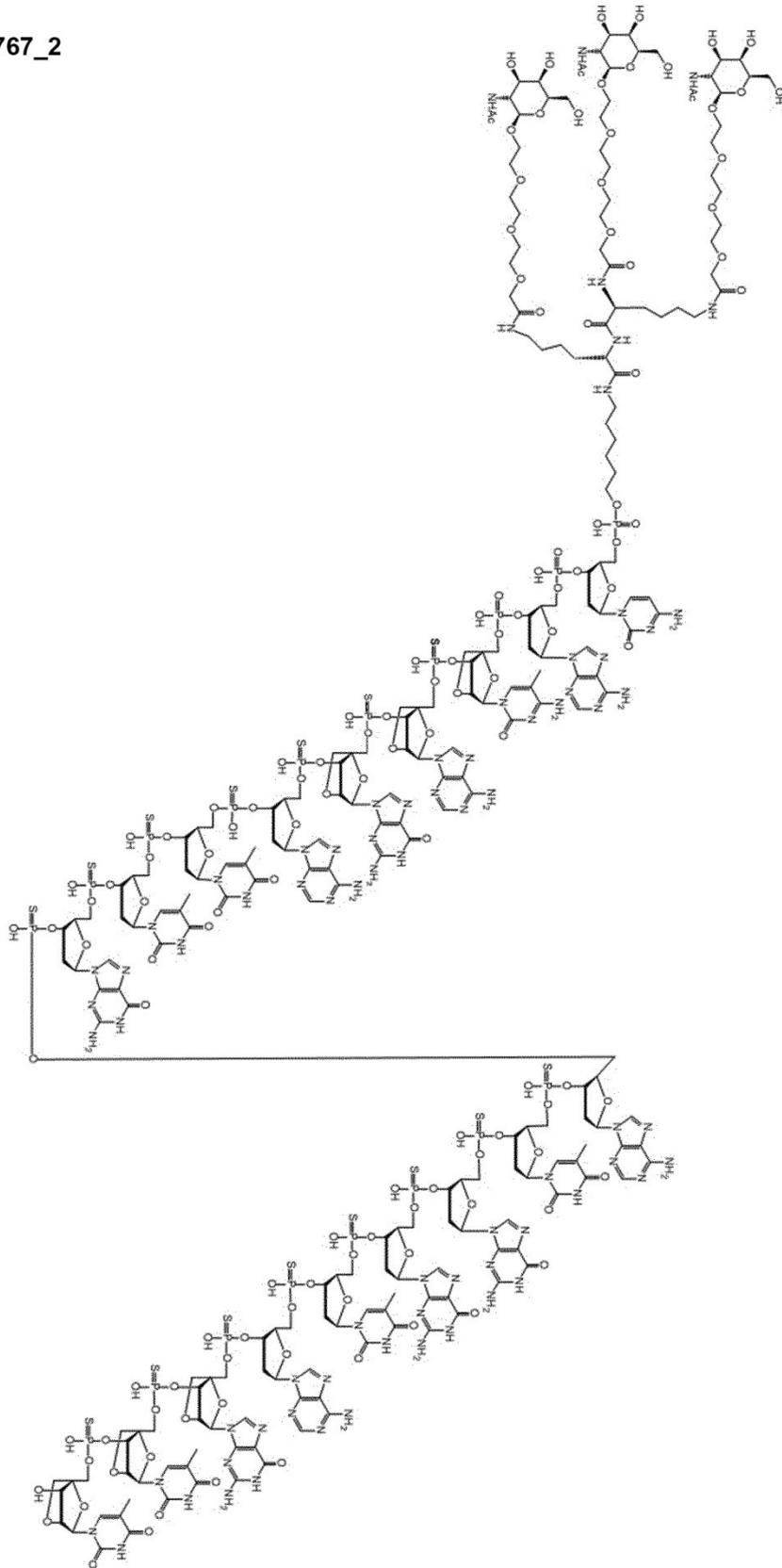


Figura 6
CMP ID NO 768_2

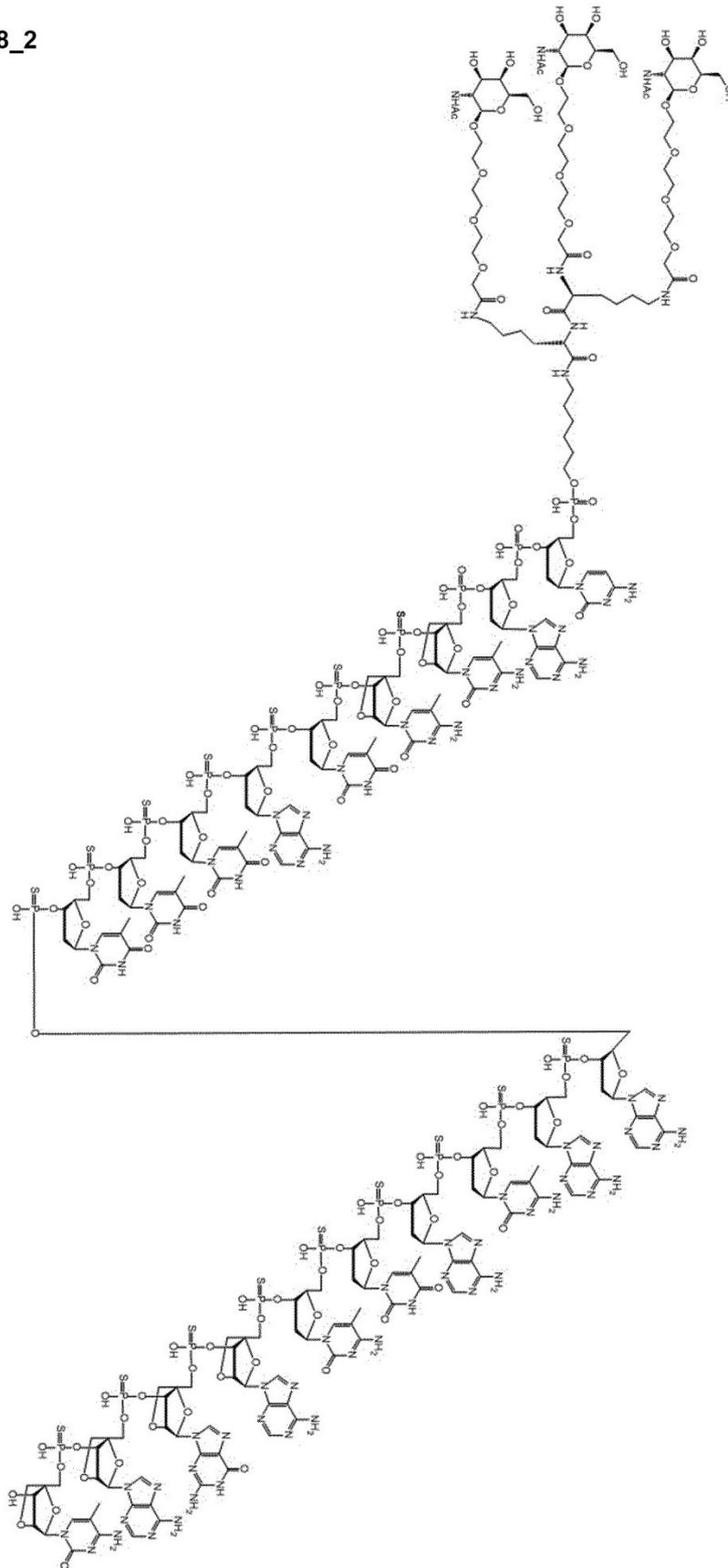


Figura 7

CMP ID NO 769_2

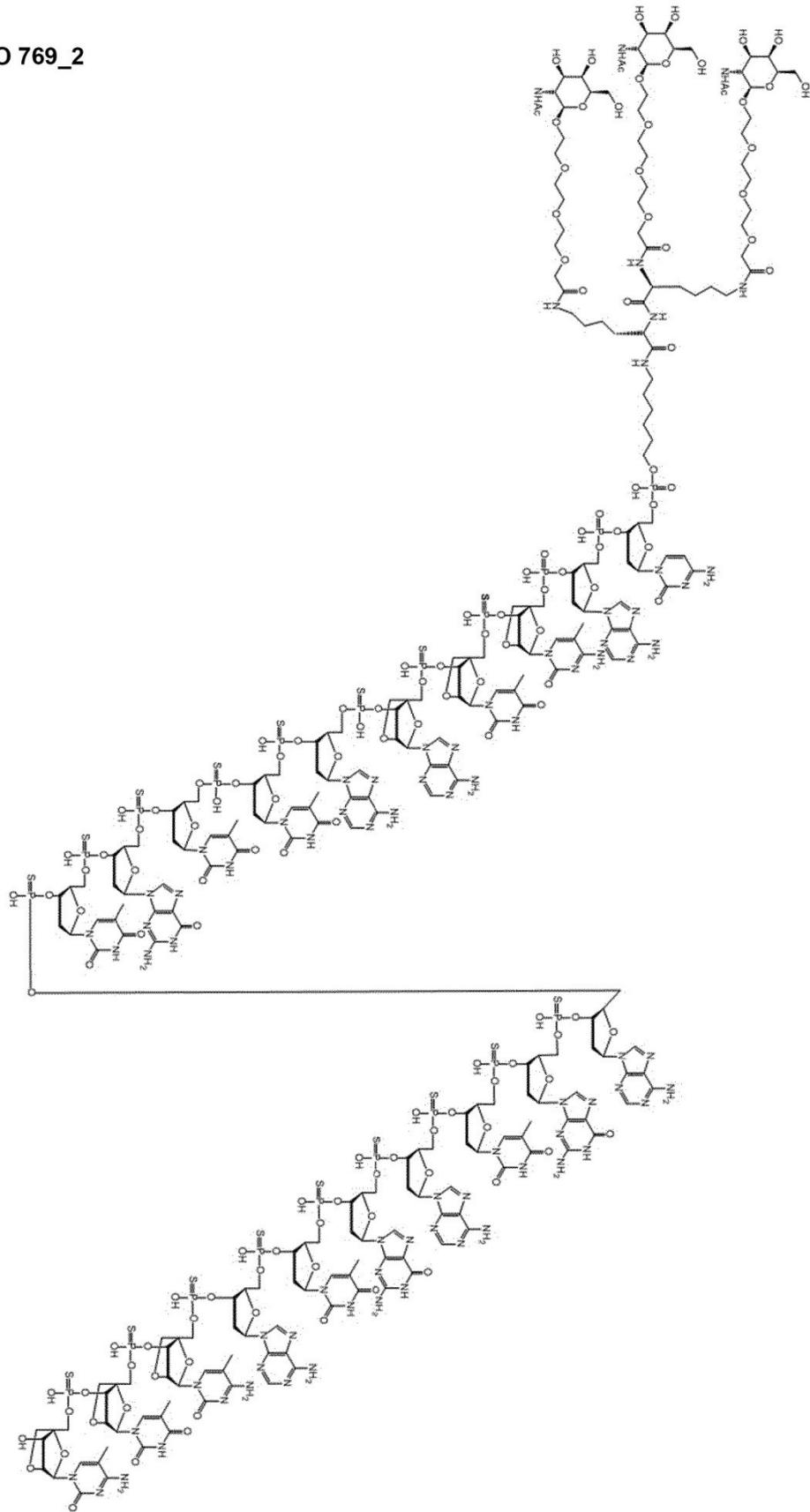


Figura 8
 CMP ID NO 770_2s

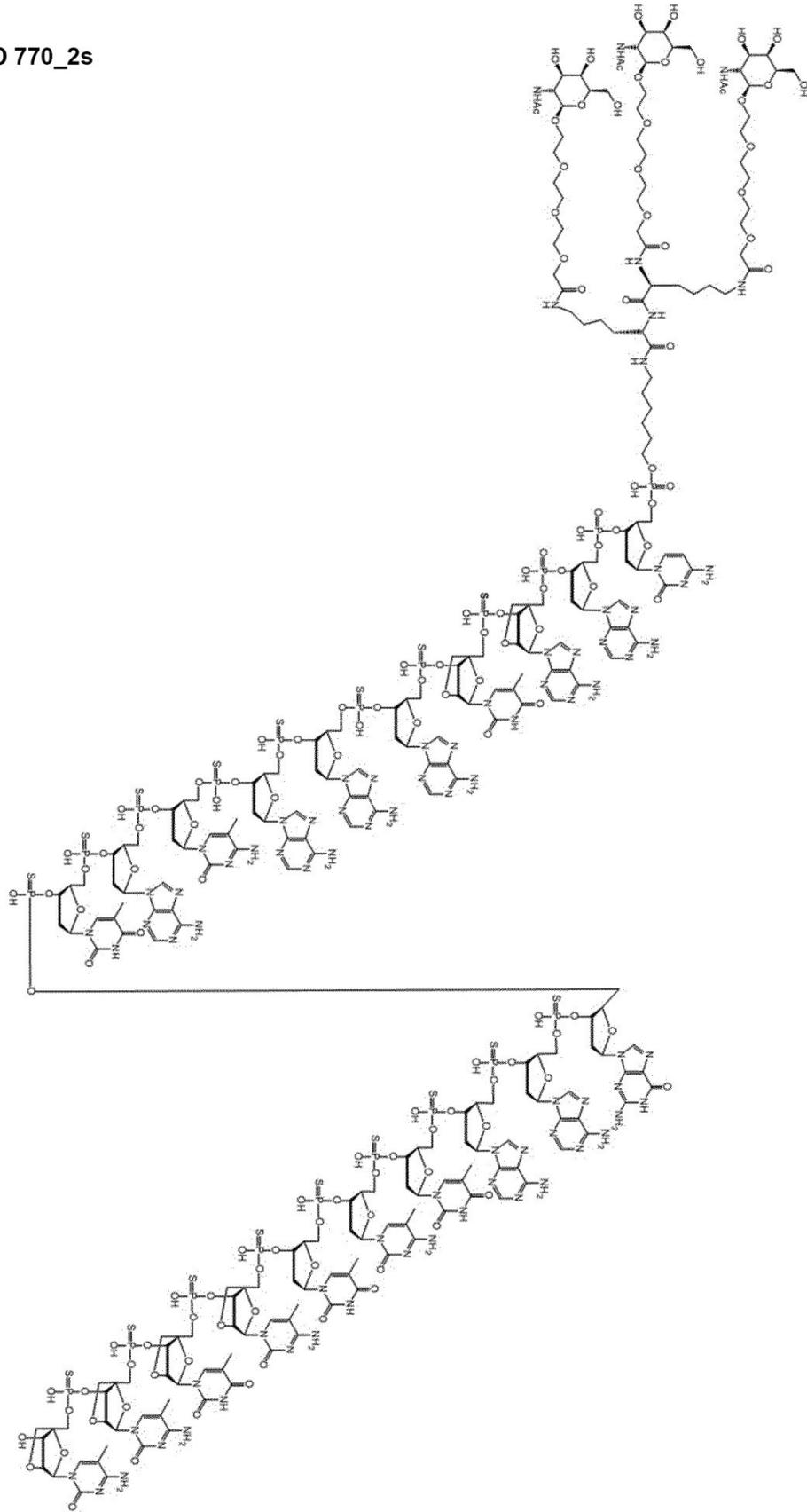


Figura 9

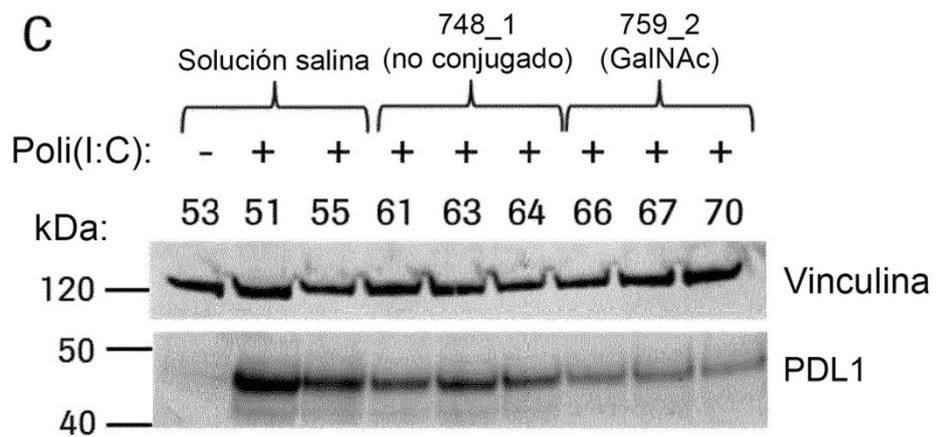
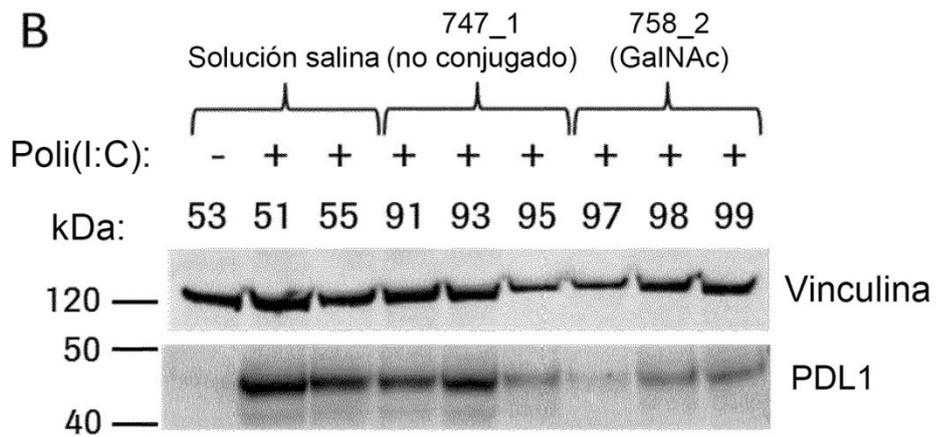
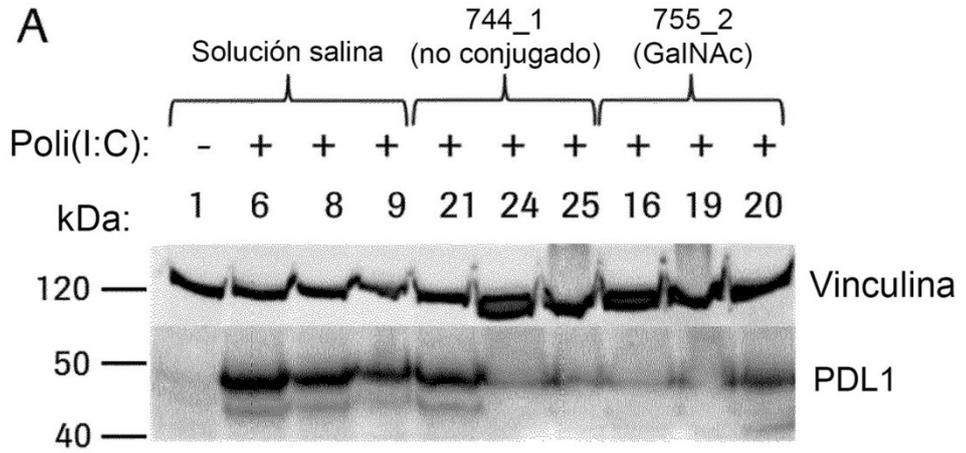


Figura 9 (cont.)

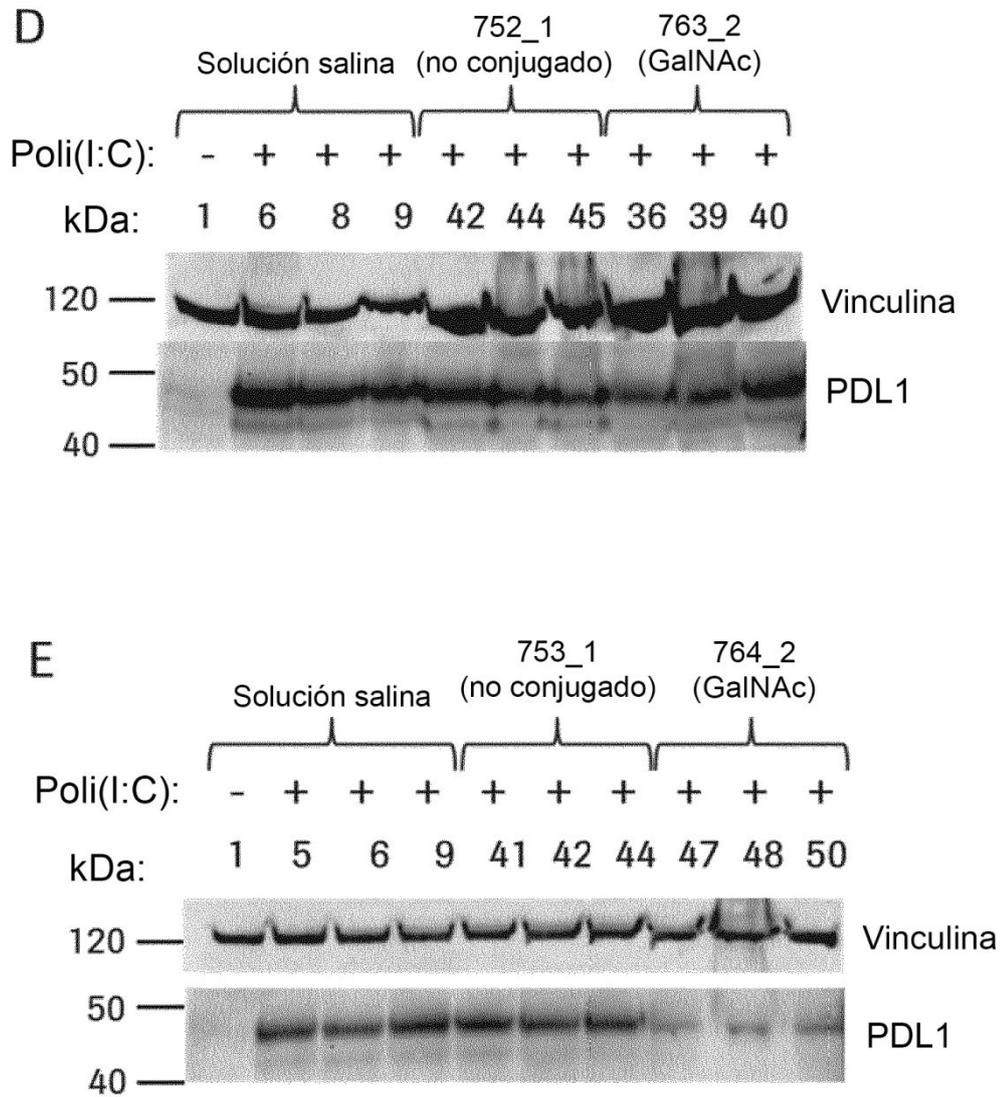


Figura 10

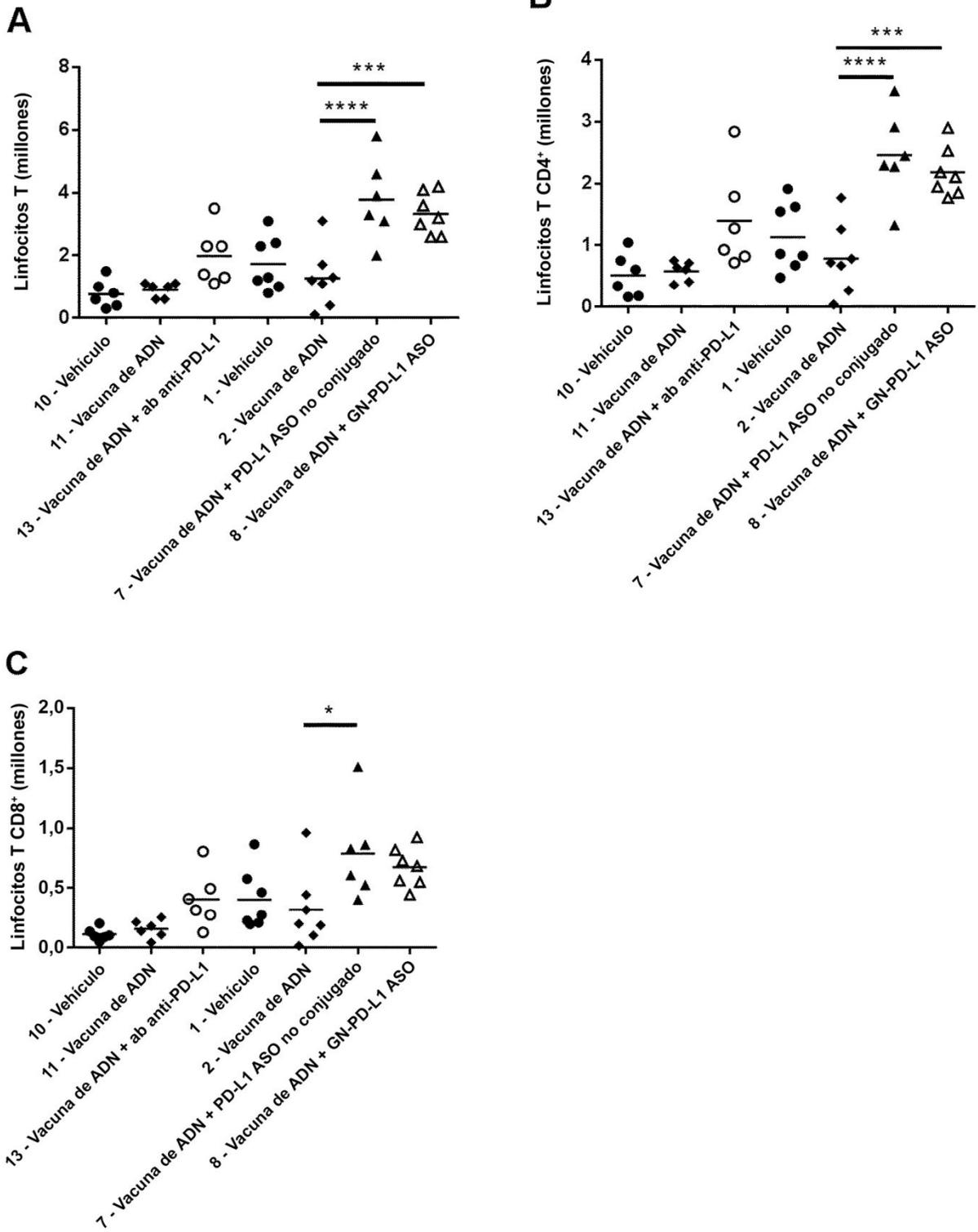


Figura 11

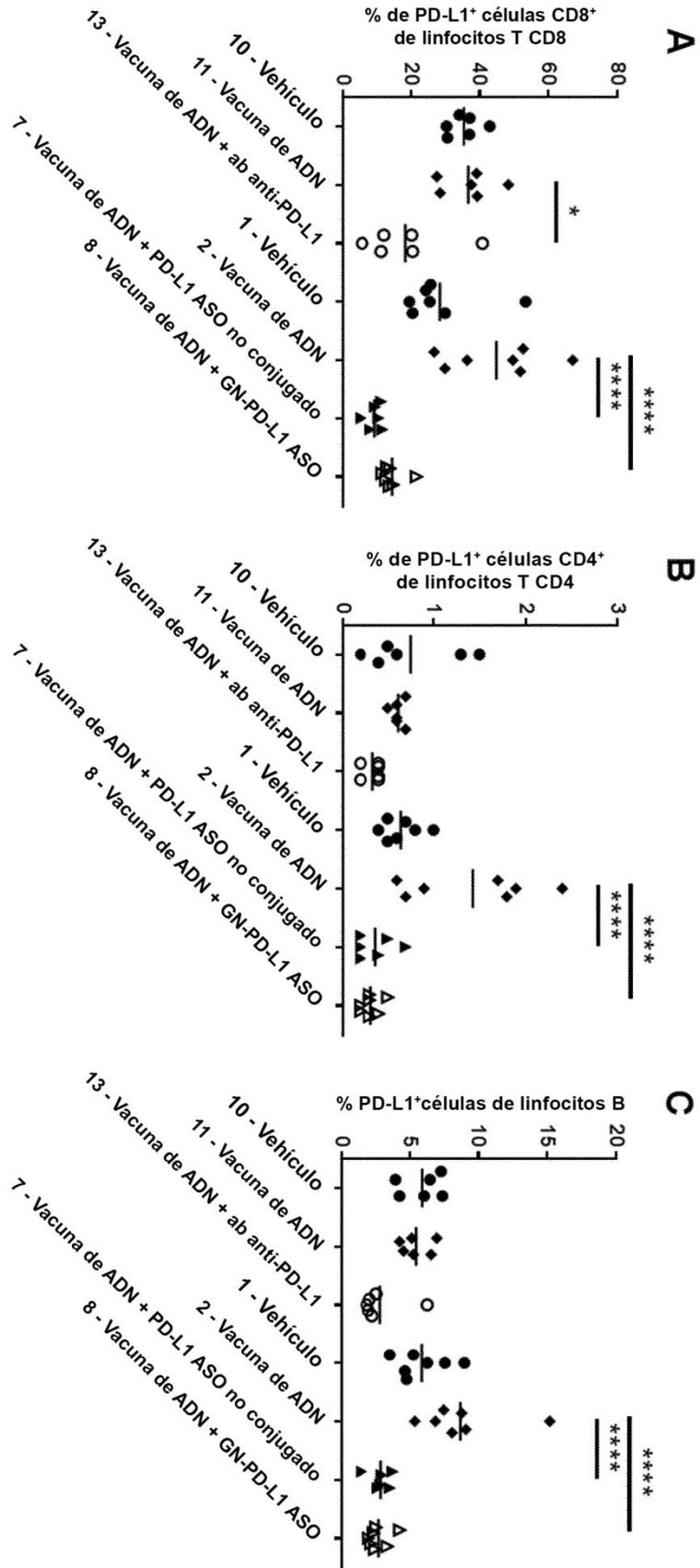


Figura 12

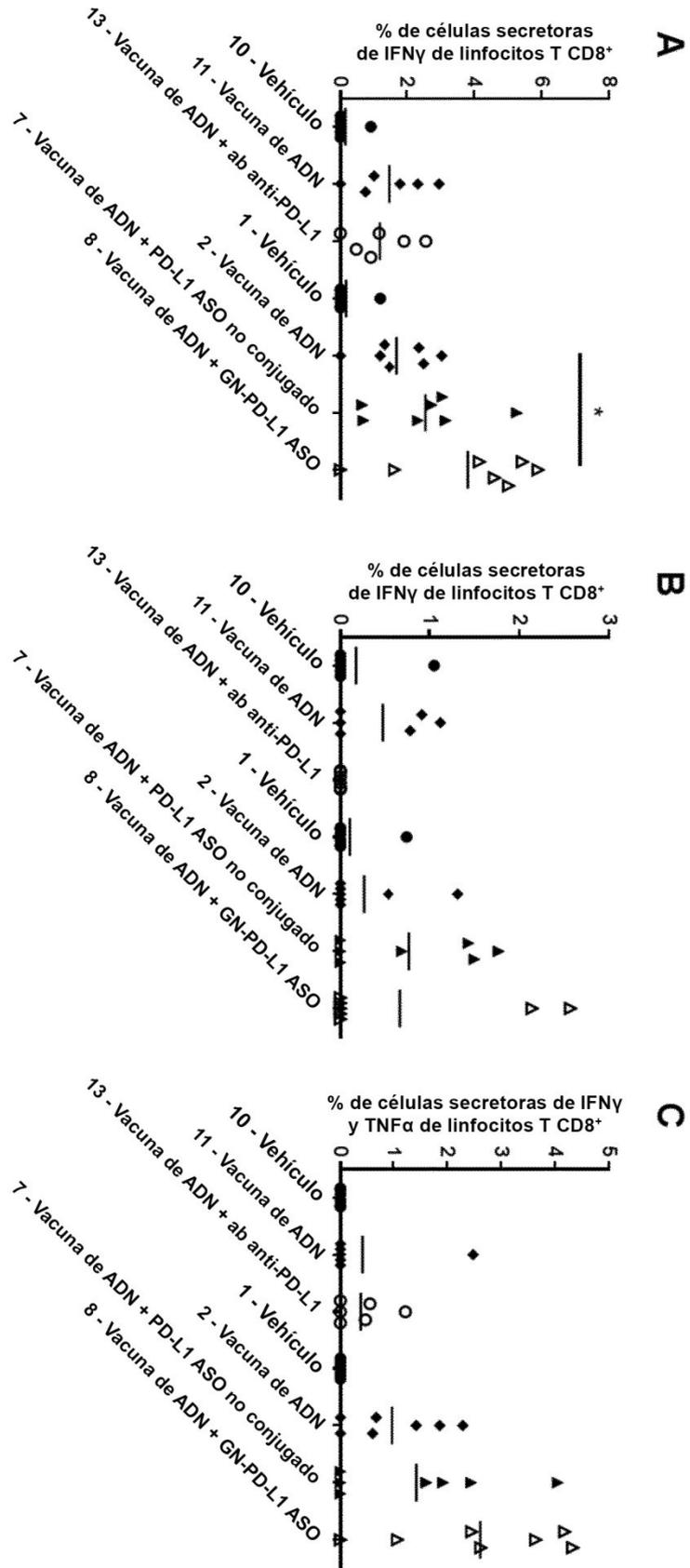


Figura 13

