

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 941 742**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/113** (2010.01)

**A61P 13/12** (2010.01)

**A61P 27/02** (2010.01)

**A61P 37/02** (2010.01)

**A61P 43/00** (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.05.2015 E 19184459 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.02.2023 EP 3608406**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para modular la expresión del factor B del complemento**

30 Prioridad:

**01.05.2014 US 201461987471 P**

**06.11.2014 US 201462076273 P**

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

**25.05.2023**

73 Titular/es:

**IONIS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**  
**2855 Gazelle Court**  
**Carlsbad, CA 92010, US**

72 Inventor/es:

**PRAKASH, THAZHA, P;**  
**SETH, PUNIT, P.;**  
**SWAYZE, ERIC, E.;**  
**GROSSMAN, TAMAR, R.;**  
**MCCALEB, MICHAEL, L.;**  
**WATT, ANDREW, T. y**  
**FREIER, SUSAN, M.**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 941 742 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

Composiciones y procedimientos para modular la expresión del factor B del complemento

5 **Campo**

La presente solicitud se refiere a procedimientos, compuestos y composiciones para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento administrando un inhibidor específico del factor B del complemento (CFB) a un sujeto.

10

**Antecedentes**

El sistema del complemento es parte del sistema inmunitario innato del huésped implicado en lisar células exógenas, potenciar la fagocitosis de antígenos, aglutinar agentes portadores de antígenos y atraer macrófagos y neutrófilos. El sistema del complemento se divide en tres vías de iniciación, las vías clásica, de lectina y alternativa, que convergen en el componente C3 para generar un complejo enzimático conocido como C3 convertasa, que escinde C3 en C3a y C3b. C3b se asocia con C3 convertasa mediada por CFB y da como resultado la generación de C5 convertasa, que escinde C5 en C5a y C5b, lo que inicia la vía de ataque a la membrana que da como resultado la formación del complejo de ataque a la membrana (CAM) que comprende los componentes C5b, C6, C7, C8 y C9. El complejo de ataque a la membrana (CAM) forma canales transmembranarios y altera la bicapa fosfolipídica de las células diana, dando lugar a la lisis celular.

15

20

25

En el estado homeostático, la vía alternativa se activa continuamente a un nivel bajo de "marcha" ("*tickover*") como resultado de la activación de la vía alternativa por hidrólisis espontánea de C3 y la producción de C3b, que genera la C5 convertasa.

El documento US7696344 B2 se refiere a maximizar la generación de un reactivo de silenciamiento génico eficaz seleccionando ARNip particulares por un diseño racional, así como procedimientos para silenciar genes.

30

El documento US2004/249178 A1 se refiere a conjugados, conectores degradables, composiciones, procedimientos de síntesis y aplicaciones de los mismos, incluyendo conjugados derivados de colesterol, folato, galactosa, galactosamina, N-acetilgalactosamina, PEG, fosfolípido, péptido y seroalbúmina humana (HSA) de compuestos biológicamente activos.

35

El documento WO2012/177947 A2 se refiere a un ácido ribonucleico bicatenario (ARNbc) dirigido a un gen APOC3 y procedimientos de uso del ARNbc para inhibir la expresión de APOC3.

El documento WO2013/166121 A1 se refiere a conjugados que contienen tetraGalNAc y procedimientos para el suministro de oligonucleótidos.

40

M. Maier *et al.* (2003) se refiere a un motivo de reconocimiento de carbohidrato multivalente para el receptor de asialoglucoproteína, diseñado para el suministro específico de célula y tejido de fármacos antisentido a células hepáticas parenquimatosas.

45 **Sumario de la invención**

La presente invención proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado monocatenario y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 16 a 30 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 455, 237, 448, 453, 444, 450, 598, 198, 549 y 228 en el que el oligonucleótido modificado tiene:

50

un segmento de hueco que consiste en desoxinucleósidos enlazados;

un segmento de ala 5' que consiste en nucleósidos enlazados; y

55

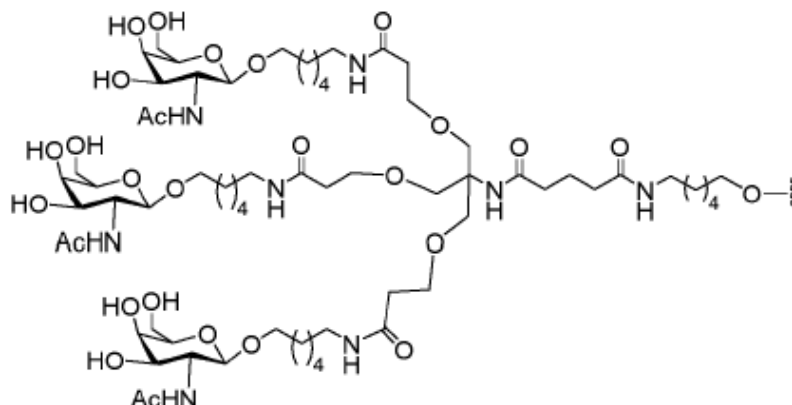
un segmento de ala 3' que consiste en nucleósidos enlazados;

en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3' y en el que cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un glúcido modificado;

60

en el que el grupo conjugado comprende:





y en el que el compuesto puede inhibir la expresión de CFB.

- 5 La presente invención también proporciona una composición que comprende el compuesto de la invención o una sal del mismo y al menos uno de un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona el compuesto o la composición de la invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto.

### Sumario de la divulgación

15 El sistema del complemento media en la inmunidad innata y desempeña un papel importante en la respuesta inflamatoria normal a la lesión, pero su regulación incorrecta puede provocar lesiones graves. La activación de la vía alternativa del complemento más allá de su nivel constitutivo de "marcha" puede dar lugar a una hiperactividad incontrolada y manifestarse como enfermedades de regulación incorrecta del complemento. Las referencias a procedimientos de tratamiento en los párrafos posteriores de la presente descripción se deben interpretar como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un procedimiento para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) por tratamiento.

Determinados modos de realización de la divulgación se refieren a procedimientos para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto por la administración de un inhibidor específico del factor B del complemento (CFB). Varios modos de realización de la divulgación se refieren a un procedimiento para inhibir la expresión de CFB en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento administrando un inhibidor específico de CFB al sujeto. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar un inhibidor específico de CFB al sujeto. En varios modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el riñón de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar un inhibidor específico de CFB al sujeto.

### Descripción detallada

Se debe entender que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son solo ejemplares y explicativas y no son restrictivas de la invención, como se reivindica. En el presente documento, el uso del singular incluye el plural a menos que se establezca específicamente de otro modo. Como se usa en el presente documento, el uso de "o" quiere decir "y/o" a menos que se establezca de otro modo. Además, el uso del término "incluyendo", así como otras formas, tales como "incluye" e "incluido", no es limitante. Además, términos tales como "elemento" o "componente" engloban tanto elementos como componentes que comprenden una unidad y elementos y componentes que comprenden más de una subunidad, a menos que se establezca específicamente de otro modo.

Los encabezados de sección usados en el presente documento solo son por motivos de organización y no se deben entender como limitantes de la materia objeto descrita.

A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura usada en relación con, y los procedimientos y técnicas de, química analítica, química orgánica sintética y química médica y farmacéutica descritas en el presente documento son los bien conocidos y comúnmente usados en la técnica. Se pueden usar

técnicas estándar para la síntesis química y el análisis químico. Determinadas de dichas técnicas y procedimientos se pueden encontrar, por ejemplo, en "Carbohydrate Modifications in Antisense Research" editado por Sangvi and Cook, American Chemical Society, Washington D.C., 1994; "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Publishing Co., Easton, Pa., 21.<sup>a</sup> edición, 2005; y "Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications" editado por Stanley T. Crooke, CRC Press, Boca Raton, Florida; y Sambrook *et al.*, "Molecular Cloning, A laboratory Manual", 2.<sup>a</sup> edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

A menos que se indique de otro modo, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

10 "2'-F nucleósido" se refiere a un nucleósido que comprende un glúcido que comprende flúor en la posición 2'. A menos que se indique de otro modo, el flúor en un 2'-F nucleósido está en la posición ribo (reemplazando el OH de una ribosa natural).

15 "2'-O-metoxietilo" (también 2'-MOE y 2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>) se refiere a una modificación de O-metoxi-etilo en la posición 2' de un anillo furanosa. Un glúcido 2'-O-metoxietilo modificado es un glúcido modificado.

"2'-MOE nucleósido" (también 2'-O-metoxietilo-nucleósido) quiere decir un nucleósido que comprende un resto glucídico 2'-MOE modificado.

20 "Nucleósido 2'-sustituido" quiere decir un nucleósido que comprende un sustituyente en la posición 2' del anillo furanosilo distinto de H u OH. En determinados modos de realización, los nucleósidos 2'-sustituídos incluyen nucleósidos con modificaciones glucídicas bicíclicas.

25 "Sitio diana 3'" se refiere al nucleótido de un ácido nucleico diana que es complementario al nucleótido más hacia 3' de un compuesto antisentido particular.

"Sitio diana 5'" se refiere al nucleótido de un ácido nucleico diana que es complementario al nucleótido más hacia 5' de un compuesto antisentido particular.

30 "5-metilcitosina" quiere decir una citosina modificada con un grupo metilo unido a la posición 5'. Una 5-metilcitosina es una nucleobase modificada.

35 "Aproximadamente" quiere decir dentro de  $\pm 10$  % de un valor. Por ejemplo, si se establece, "los compuestos afectaron a al menos aproximadamente un 70 % de la inhibición de CFB", denota que los niveles de CFB se inhiben dentro de un intervalo de un 60 % y 80 %.

40 "Administración" o "administrar" se refiere a vías para introducir un compuesto antisentido proporcionado en el presente documento a un sujeto para realizar su función prevista. Un ejemplo de una vía de administración que se puede usar incluye, pero no se limita a, administración parenteral, tal como inyección o infusión subcutánea, intravenosa o intramuscular.

45 "Alquilo", como se usa en el presente documento, quiere decir un radical hidrocarburo lineal o ramificado saturado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, sin limitación, metilo, etilo, propilo, butilo, isopropilo, n-hexilo, octilo, decilo, dodecilo y similares. Los grupos alquilo típicamente incluyen de 1 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono (alquilo C1-C12) siendo más preferente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

50 Como se usa en el presente documento, "alquenilo" quiere decir un radical de cadena hidrocarbonada lineal o ramificado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono y que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen sin limitación, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo, dienos tales como 1,3-butadieno y similares. Los grupos alquenilo típicamente incluyen de 2 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más típicamente de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, siendo más preferentes de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Los grupos alquenilo como se usa en el presente documento pueden incluir opcionalmente uno o más de otros grupos sustituyentes.

55 Como se usa en el presente documento, "alquinilo" quiere decir un radical hidrocarburo lineal o ramificado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono y que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquinilo incluyen, sin limitación, etinilo, 1-propinilo, 1-butinilo y similares. Los grupos alquinilo típicamente incluyen de 2 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más típicamente de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, siendo más preferentes de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Los grupos alquinilo como se usa en el presente documento pueden incluir opcionalmente uno o más de otros grupos sustituyentes.

60 Como se usa en el presente documento, "acilo" quiere decir un radical formado por la retirada de un grupo hidroxilo de un ácido orgánico y tiene la fórmula general -C(O)-X donde X es típicamente alifático, alicíclico o aromático. Los ejemplos incluyen carbonilos alifáticos, carbonilos aromáticos, sulfonilos alifáticos, sulfinilos aromáticos, sulfinilos alifáticos, fosfatos aromáticos, fosfatos alifáticos y similares. Los grupos acilo como se usa en el presente

documento pueden incluir opcionalmente otros grupos sustituyentes.

Como se usa en el presente documento, "alicíclico" quiere decir un sistema de anillo cíclico en el que el anillo es alifático. El sistema de anillo puede comprender uno o más anillos en el que al menos un anillo es alifático. Los alicíclicos preferentes incluyen anillos que tienen de aproximadamente 5 a aproximadamente 9 átomos de carbono en el anillo. Alicíclico como se usa en el presente documento puede incluir opcionalmente otros grupos sustituyentes.

Como se usa en el presente documento, "alifático" quiere decir un radical hidrocarburo lineal o ramificado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono en el que la saturación entre dos átomos de carbono cualesquiera es un enlace simple, doble o triple. Un grupo alifático contiene preferentemente de 1 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, siendo más preferente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono. La cadena lineal o ramificada de un grupo alifático se puede interrumpir con uno o más heteroátomos que incluyen nitrógeno, oxígeno, azufre y fósforo. Dichos grupos alifáticos interrumpidos por heteroátomos incluyen sin limitación, polialcoxis, tales como polialquilenglicoles, poliaminas y poliiminas. Los grupos alifáticos como se usa en el presente documento pueden incluir opcionalmente otros grupos sustituyentes.

Como se usa en el presente documento, "alcoxi" quiere decir un radical formado entre un grupo alquilo y un átomo de oxígeno en el que el átomo de oxígeno se usa para unir el grupo alcoxi a una molécula original. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, n-pentoxi, neopentoxi, n-hexoxi y similares. Los grupos alcoxi como se usa en el presente documento pueden incluir opcionalmente otros grupos sustituyentes.

Como se usa en el presente documento, "aminoalquilo" quiere decir un radical alquilo C1-C12 sustituido con amino. La porción de alquilo del radical forma un enlace covalente con una molécula original. El grupo amino se puede localizar en cualquier posición y el grupo aminoalquilo puede estar sustituido con otro grupo sustituyente en las porciones alquilo y/o amino.

Como se usa en el presente documento, "aralquilo" y "arilalquilo" quieren decir un grupo aromático que está enlazado covalentemente a un radical alquilo C1-C12. La porción de radical alquilo del grupo aralquilo (o arilalquilo) resultante forma un enlace covalente con una molécula original. Los ejemplos incluyen sin limitación, bencilo, fenetilo y similares. Los grupos aralquilo como se usa en el presente documento pueden incluir opcionalmente otros grupos sustituyentes unidos al alquilo, al arilo o a ambos grupos que forman el grupo radical.

Como se usa en el presente documento, "arilo" y "aromático" quieren decir radicales de sistema de anillo carbocíclico mono o policíclico que tiene uno o más anillos aromáticos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen sin limitación, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, idenilo y similares. Los sistemas de anillo arilo preferentes tienen de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 átomos de carbono en uno o más anillos. Los grupos arilo como se usa en el presente documento pueden incluir opcionalmente otros grupos sustituyentes.

"Mejoría" se refiere a una disminución de al menos un indicador, signo o síntoma de una enfermedad, trastorno o afección asociados. En determinados modos de realización, la mejora incluye un retraso o ralentización en la progresión de uno o más indicadores de una afección o enfermedad. La gravedad de los indicadores se puede determinar por medidas subjetivas u objetivas, que son conocidas para los expertos en la técnica.

"Animal" se refiere a un animal humano o no humano, incluyendo, pero sin limitarse a, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, cerdos y primates no humanos, incluyendo pero sin limitarse a, monos y chimpancés.

"Actividad antisentido" quiere decir cualquier actividad detectable o medible atribuible a la hibridación de un compuesto antisentido a su ácido nucleico diana. En determinados modos de realización, la actividad antisentido es una disminución en la cantidad o expresión de un ácido nucleico diana o proteína codificada por dicho ácido nucleico diana.

"Compuesto antisentido" quiere decir un compuesto oligomérico que puede experimentar hibridación a un ácido nucleico diana a través de enlaces de hidrógeno. Los ejemplos de compuestos antisentido incluyen compuestos monocatenarios y bicatenarios, tales como oligonucleótidos antisentido, ARNip, ARNhc, ARNmc y compuestos basados en ocupación.

"Inhibición antisentido" quiere decir la reducción de los niveles de ácido nucleico diana en presencia de un compuesto antisentido complementario a un ácido nucleico diana en comparación con los niveles de ácido nucleico diana en ausencia del compuesto antisentido.

Los "mecanismos antisentido" son todos los mecanismos que implican la hibridación de un compuesto con el ácido nucleico diana, en los que el resultado o efecto de la hibridación es la degradación de la diana o bien la ocupación de la diana con el estancamiento concomitante de la maquinaria celular que implica, por ejemplo, la transcripción

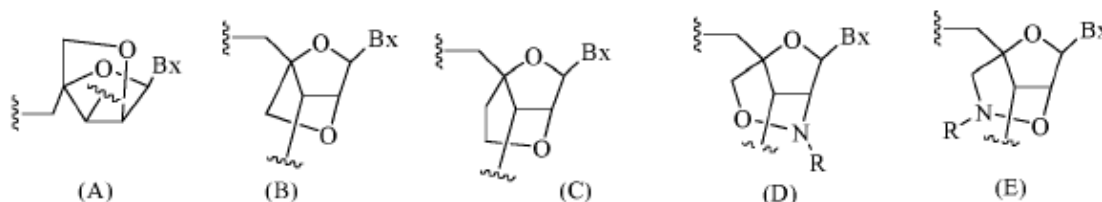
o el empalme.

"Oligonucleótido antisentido" quiere decir un oligonucleótido monocatenario que tiene una secuencia de nucleobases que permite la hibridación a una región o segmento correspondiente de un ácido nucleico diana.

La "complementariedad de bases" se refiere a la capacidad para el emparejamiento de bases preciso de nucleobases de un oligonucleótido antisentido con las correspondientes nucleobases en un ácido nucleico diana (es decir, hibridación), y está mediada por la unión de hidrógeno de Watson-Crick, Hoogsteen o Hoogsteen inversa entre las correspondientes nucleobases.

"Resto glucídico bicíclico" quiere decir un resto glucídico modificado que comprende un anillo de 4 a 7 miembros (incluyendo pero sin limitarse a un furanosilo) que comprende un puente que conecta dos átomos del anillo de 4 a 7 miembros para formar un segundo anillo, lo que da como resultado una estructura bicíclica. En determinados modos de realización, el anillo de 4 a 7 miembros es un anillo glucídico. En determinados modos de realización, el anillo de 4 a 7 miembros es un furanosilo. En determinados de dichos modos de realización, el puente conecta el carbono 2' y el carbono 4' del furanosilo.

"Ácido nucleico bicíclico" o "BNA" o "nucleósidos BNA" quiere decir monómeros de ácido nucleico que tienen un puente que conecta dos átomos de carbono entre la posición 4' y 2' de la unidad glucídica nucleosídica, formando de este modo un glúcido bicíclico. Los ejemplos de dichos glúcidos bicíclicos incluyen, pero no se limitan a A)  $\alpha$ -L-metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') LNA, (B)  $\beta$ -D-metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') LNA, (C) etilenoxi (4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2') LNA, (D) aminooxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2') LNA y (E) oxiamino (4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2') LNA, como se representa a continuación.



Como se usa en el presente documento, los compuestos de LNA incluyen, pero no se limitan a, compuestos que tienen al menos un puente entre la posición 4' y la 2' del glúcido en los que cada uno de los puentes comprende independientemente 1 o de 2 a 4 grupos enlazados seleccionados independientemente de  $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ ,  $-C(R_1)=C(R_2)-$ ,  $-C(R_1)=N-$ ,  $-C(=NR_1)-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-C(=S)-$ ,  $-O-$ ,  $-Si(R_1)_2-$ ,  $-S(=O)_x-$  y  $-N(R_1)-$ ; en los que: x es 0, 1 o 2; n es 1, 2, 3 o 4; cada R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es, independientemente, H, un grupo protector, hidroxilo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical alicíclico C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>, radical alicíclico C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> sustituido, halógeno, OJ<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, SJ<sub>1</sub>, N<sub>3</sub>, COOJ<sub>1</sub>, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, CN, sulfonilo (S(=O)<sub>2</sub>-J<sub>1</sub>) o sulfoxilo (S(=O)-J<sub>1</sub>); y cada J<sub>1</sub> y J<sub>2</sub> es, independientemente, H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> sustituido, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, aminoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, aminoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido o un grupo protector.

Los ejemplos de grupos puente 4'-2' englobados dentro de la definición de LNA incluyen, pero no se limitan a una de las fórmulas:  $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ ,  $-[C(R_1)(R_2)]_n-O-$ ,  $-C(R_1R_2)-N(R_1)-O-$  o  $-C(R_1R_2)-O-N(R_1)-$ . Además, otros grupos puente englobados con la definición de LNA son los puentes 4'-CH<sub>2</sub>-2', 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-2', 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2', 4'-CH<sub>2</sub>-O-2', 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2', 4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R<sub>1</sub>)-2' y 4'-CH<sub>2</sub>-N(R<sub>1</sub>)-O-2', en los que cada R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es, independientemente, H, un grupo protector o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>.

También se incluyen dentro de la definición de LNA de acuerdo con la invención LNA en los que el grupo 2'-hidroxilo del anillo glucídico ribosilo está conectado al átomo de carbono 4' del anillo glucídico, formando de este modo un puente metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') para formar un resto glucídico bicíclico. El puente también puede ser un grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-) que conecta el átomo de oxígeno 2' y el átomo de carbono 4', para el que se usa el término metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') LNA. Además; en el caso del resto glucídico bicíclico que tiene un grupo puente etileno en esta posición, se usa el término etilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O-2') LNA,  $\alpha$ -L-metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2'), un isómero de metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') LNA también se engloba dentro de la definición de LNA, como se usa en el presente documento.

"Estructura de caperuza" o "resto de caperuza terminal" quiere decir modificaciones químicas que se han incorporado en cualquier extremo de un compuesto antisentido.

"Carbohidrato" quiere decir un carbohidrato natural, un carbohidrato modificado o un derivado de carbohidrato.

"Agrupación de carbohidrato" quiere decir un compuesto que tiene uno o más residuos de carbohidrato unidos a

un andamio o grupo conector. (véanse, por ejemplo, Maier *et al.*, "Synthesis of Antisense Oligonucleotides Conjugated to a Multivalent Carbohydrate Cluster for Cellular Targeting", *Bioconjugate Chemistry*, 2003, (14): 18-29, o Rensen *et al.*, "Design and Synthesis of Novel *N*-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor", *J. Med. Chem.* 2004, (47): 5798-5808, para ejemplos de agrupaciones de conjugados de carbohidratos).

"Derivado de carbohidrato" quiere decir cualquier compuesto que se puede sintetizar usando un carbohidrato como material de partida o intermedio.

"cEt" o "etilo restringido" quiere decir un resto glucídico bicíclico que comprende un puente que conecta el carbono 4' y el carbono 2', en el que el puente tiene la fórmula: 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'.

"Modificación química" quiere decir una diferencia química en un compuesto cuando se compara con su homólogo natural. Las modificaciones químicas de oligonucleótidos incluyen modificaciones nucleosídicas (incluyendo modificaciones de restos glucídicos y modificaciones de nucleobases) y modificaciones de enlaces internucleosídicos. En referencia a un oligonucleótido, la modificación química no incluye diferencias solo en la secuencia de nucleobases.

"Enlace escindible" quiere decir cualquier enlace químico que se puede dividir. En determinados modos de realización, un enlace escindible se selecciona de entre: una amida, una poliamida, un éster, un éter, uno o ambos ésteres de un fosfodiéster, un éster de fosfato, un carbamato, un disulfuro o un péptido.

"Resto escindible" (CM) quiere decir un enlace o grupo que se puede escindir en condiciones fisiológicas. En determinados modos de realización, un resto escindible se escinde dentro de una célula o compartimentos subcelulares, tales como un lisosoma. En determinados modos de realización, un resto escindible se escinde por enzimas endógenas, tales como nucleasas. En determinados modos de realización, un resto escindible comprende un grupo de átomos que tienen uno, dos, tres, cuatro o más de cuatro enlaces escindibles.

"Conjugado" o "grupo conjugado" quiere decir un átomo o grupo de átomos unido a un oligonucleótido o compuesto oligomérico. En general, los grupos conjugados modifican una o más propiedades del compuesto al que se unen, incluyendo, pero sin limitarse a, propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas, de unión, absorción, distribución celular, captación celular, carga y/o eliminación.

"Conector conjugado" o "conector" en el contexto de un grupo conjugado quiere decir una porción de un grupo conjugado que comprende cualquier átomo o grupo de átomos y que enlaza covalentemente (1) un oligonucleótido a otra porción del grupo conjugado o (2) dos o más porciones del grupo conjugado.

Los grupos conjugados se muestran en el presente documento como radicales, proporcionando un enlace para formar una unión covalente a un compuesto oligomérico tal como un oligonucleótido antisentido. En determinados modos de realización, el punto de unión en el compuesto oligomérico es el átomo de oxígeno 3' del grupo hidroxilo 3' del nucleósido terminal 3' del compuesto oligomérico. En determinados modos de realización, el punto de unión en el compuesto oligomérico es el átomo de oxígeno 5' del grupo hidroxilo 5' del nucleósido terminal 5' del compuesto oligomérico. En determinados modos de realización, el enlace para formar la unión al compuesto oligomérico es un enlace escindible. En determinados de dichos modos de realización, dicho enlace escindible constituye todo o parte de un resto escindible.

En determinados modos de realización, los grupos conjugados comprenden un resto escindible (por ejemplo, un enlace escindible o nucleósido escindible) y una porción de agrupación de carbohidrato, tal como una porción de agrupación de GalNAc. Dicha porción de agrupación de carbohidrato comprende: un resto dirigido y, opcionalmente, un conector conjugado. En determinados modos de realización, la porción de agrupación de carbohidrato se identifica por el número e identidad del ligando. Por ejemplo, en determinados modos de realización, la porción de agrupación de carbohidrato comprende 3 grupos GalNAc y se denomina "GalNAc3". En determinados modos de realización, la porción de agrupación de carbohidrato comprende 4 grupos GalNAc y se denomina "GalNAc4". Las porciones de agrupaciones de carbohidratos específicos (que tienen grupos conectores conjugados, de ramificación y de anclaje específicos) se describen en el presente documento y se designan por números romanos seguidos del subíndice "a". En consecuencia, "GalNac3-1a" se refiere a una porción de agrupación de carbohidrato específica de un grupo conjugado que tiene 3 grupos GalNac y grupos de anclaje, ramificación y de enlace específicamente identificados. Dicho fragmento de agrupación de carbohidrato se une a un compuesto oligomérico por medio de un resto escindible, tal como un enlace escindible o nucleósido escindible.

"Compuesto conjugado" quiere decir cualquier átomo, grupo de átomos o grupo de átomos enlazados adecuado para su uso como grupo conjugado. En determinados modos de realización, los compuestos conjugados pueden poseer o impartir una o más propiedades, incluyendo, pero sin limitarse a, propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas, de unión, absorción, distribución celular, captación celular, carga y/o eliminación.

"Nucleósido de etilo restringido" (también nucleósido cEt) quiere decir un nucleósido que comprende un resto

glucídico bicíclico que comprende un puente 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'.

"Factor B del complemento (CFB)" quiere decir cualquier ácido nucleico o proteína de CFB. "Ácido nucleico de CFB" quiere decir cualquier ácido nucleico que codifica CFB. Por ejemplo, en determinados modos de realización, un ácido nucleico de CFB incluye una secuencia de ADN que codifica CFB, una secuencia de ARN transcrita a partir de ADN que codifica CFB (incluyendo ADN genómico que comprende intrones y exones), incluyendo una secuencia de ARN que no codifica proteínas (es decir, no codificante) y una secuencia de ARNm que codifica CFB. "ARNm de CFB" quiere decir un ARNm que codifica una proteína de CFB.

"Inhibidor específico de CFB" se refiere a cualquier agente que puede inhibir específicamente la actividad o expresión de ARN de CFB y/o proteína de CFB a nivel molecular. Por ejemplo, los inhibidores específicos de CFB incluyen ácidos nucleicos (incluyendo compuestos antisentido), péptidos, anticuerpos, moléculas pequeñas y otros agentes que pueden inhibir la expresión de ARN de CFB y/o proteína de CFB.

"Región químicamente distinta" se refiere a una región de un compuesto antisentido que es de alguna manera químicamente diferente de otra región del mismo compuesto antisentido. Por ejemplo, una región que tiene 2'-O-metoxietil-nucleótidos es químicamente distinta de una región que tiene nucleótidos sin modificaciones de 2'-O-metoxietilo.

"Compuestos antisentido quiméricos" quiere decir compuestos antisentido que tienen al menos 2 regiones químicamente distintas, teniendo cada posición una pluralidad de subunidades.

"Complementariedad" quiere decir la capacidad de emparejamiento entre nucleobases de un primer ácido nucleico y un segundo ácido nucleico.

Se entenderá que "comprender", "comprende" y "comprendiendo" implican la inclusión de una etapa o elemento o grupo de etapas o elementos establecidos, pero no la exclusión de cualquier otra etapa o elemento o grupo de etapas o elementos.

"Nucleobases contiguas" quiere decir nucleobases inmediatamente adyacentes entre sí.

"Desoxinucleósido" quiere decir un nucleósido que comprende un resto glucídico 2'-H furanosilo, como se encuentra en desoxirribonucleósidos (ADN) naturales. En determinados modos de realización, un 2'-desoxinucleósido puede comprender una nucleobase modificada o puede comprender una nucleobase de ARN (por ejemplo, uracilo).

"Desoxirribonucleótido" quiere decir un nucleótido que tiene un hidrógeno en la posición 2' de la porción glucídica del nucleótido. Los desoxirribonucleótidos se pueden modificar con cualquiera de una variedad de sustituyentes.

"Diseño" o "diseñado para" se refiere al proceso de diseño de un compuesto oligomérico que se hibrida específicamente con una molécula de ácido nucleico seleccionada.

"Modificado de manera diferente" quiere decir modificaciones químicas o sustituyentes químicos que son diferentes entre sí, incluyendo ausencia de modificaciones. Por tanto, por ejemplo, un nucleósido MOE y un nucleósido de ADN no modificado están "modificados de manera diferente", aunque el nucleósido de ADN no esté modificado. Asimismo, ADN y ARN están "modificados de manera diferente", aunque ambos son nucleósidos no modificados naturales. Los nucleósidos que son iguales pero que comprenden diferentes nucleobases no están modificados de manera diferente. Por ejemplo, un nucleósido que comprende un glúcido 2'-OMe modificado y una nucleobase de adenina no modificada y un nucleósido que comprende un glúcido 2'-OMe modificado y una nucleobase de timina no modificada no están modificados de manera diferente.

"Bicatenario" se refiere a dos compuestos oligoméricos separados que se hibridan entre sí. Dichos compuestos bicatenarios pueden tener uno o más nucleósidos no hibridantes en uno o ambos extremos de una o ambas hebras (protuberancias) y/o uno o más nucleósidos no hibridantes internos (emparejamientos erróneos) siempre que exista suficiente complementariedad para mantener la hibridación en condiciones fisiológicamente pertinentes.

"Cantidad eficaz" quiere decir la cantidad de agente farmacéutico activo suficiente para efectuar un resultado fisiológico deseado en un individuo que necesita el agente. La cantidad eficaz puede variar entre individuos dependiendo de la salud y el estado físico del individuo que se va a tratar, el grupo taxonómico de los individuos que se van a tratar, la formulación de la composición, evaluación de la afección médica del individuo y otros factores pertinentes.

"Eficacia" quiere decir la capacidad para producir un efecto deseado.

"Expresión" incluye todas las funciones por las que la información codificada de un gen se convierte en estructuras presentes y funcionales en una célula. Dichas estructuras incluyen, pero no se limitan a los productos de

transcripción y traducción.

"Totalmente complementario" o "100 % complementario" quiere decir que cada nucleobase de un primer ácido nucleico tiene una nucleobase complementaria en un segundo ácido nucleico. En determinados modos de realización, un primer ácido nucleico es un compuesto antisentido y un ácido nucleico diana es un segundo ácido nucleico.

"Furanosilo" quiere decir una estructura que comprende un anillo de 5 miembros que comprende cuatro átomos de carbono y un átomo de oxígeno.

"Gápmero" quiere decir un compuesto antisentido quimérico en el que una región interna que tiene una pluralidad de nucleósidos que soportan la escisión por RNasa H se sitúa entre regiones externas que tienen uno o más nucleósidos, en el que los nucleósidos que comprenden la región interna son químicamente distintos del nucleósido o nucleósidos que comprenden las regiones externas. La región interna se puede denominar "hueco" y las regiones externas se pueden denominar "alas".

"Halo" y "halógeno" quieren decir un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo.

"Heteroarilo" y "heteroaromático" quieren decir un radical que comprende un anillo, sistema de anillo o sistema de anillo fusionado mono o policíclico aromático en el que al menos uno de los anillos es aromático e incluye uno o más heteroátomos. Heteroarilo también pretende incluir sistemas de anillo fusionado que incluyen sistemas donde uno o más de los anillos fusionados no contienen heteroátomos. Los grupos heteroarilo típicamente incluyen un átomo en el anillo seleccionado de azufre, nitrógeno u oxígeno. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen sin limitación, piridinilo, piracinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isooxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzooxazolilo, quinoxalinilo y similares. Los radicales heteroarilo se pueden unir a una molécula original directamente o a través de un resto de enlace tal como un grupo alifático o heteroátomo. Los grupos heteroarilo como se usa en el presente documento pueden incluir opcionalmente otros grupos sustituyentes.

"Hibridación" quiere decir la hibridación de moléculas de ácido nucleico complementarias. En determinados modos de realización, las moléculas de ácido nucleico complementarias incluyen, pero no se limitan a, un compuesto antisentido y una diana de ácido nucleico. En determinados modos de realización, las moléculas de ácido nucleico complementarias incluyen, pero no se limitan a, un oligonucleótido antisentido y una diana de ácido nucleico.

"Identificar a un animal que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad, trastorno y/o afección" quiere decir identificar a un animal que se ha diagnosticado con la enfermedad, trastorno y/o afección o identificar a un animal predispuesto a desarrollar la enfermedad, trastorno y/o afección. Dicha identificación se puede lograr por cualquier procedimiento, incluyendo evaluar los antecedentes médicos de un individuo y las pruebas o evaluaciones clínicas estándar.

"Inmediatamente adyacente" quiere decir que no hay elementos intermedios entre los elementos inmediatamente adyacentes.

"Individuo" quiere decir un animal humano o no humano seleccionado para un tratamiento.

"Inhibir la expresión o actividad" se refiere a una reducción, bloqueo de la expresión o actividad y no indica necesariamente una eliminación total de expresión o actividad.

"Enlace internucleosídico" se refiere al enlace químico entre nucleósidos.

"Grupo de enlace neutro internucleosídico" quiere decir un grupo de enlace neutro que enlaza directamente dos nucleósidos.

"Grupo de enlace de fósforo internucleosídico" quiere decir un grupo de enlace de fósforo que enlaza directamente dos nucleósidos.

Oligonucleótidos antisentido "alargados" son los que tienen uno o más nucleósidos adicionales en relación con un oligonucleótido antisentido divulgado en el presente documento.

"Motivo de enlace" quiere decir un patrón de modificaciones de enlace en un oligonucleótido o región del mismo. Los nucleósidos de dicho oligonucleótido pueden estar modificados o no modificados. A menos que se indique de otro modo, los motivos en el presente documento que describen solo enlaces pretenden ser motivos de enlace. Por tanto, en dichos casos, los nucleósidos no están limitados.

"Desoxinucleósido enlazado" quiere decir una base de ácido nucleico (A, G, C, T, U) sustituida por desoxirribosa enlazada por un éster de fosfato para formar un nucleótido.

"Nucleósidos enlazados" quiere decir nucleósidos adyacentes enlazados entre sí por un enlace internucleosídico.

5 "Nucleósido de ácido nucleico bloqueado" o "LNA" quiere decir un nucleósido que comprende un resto glucídico bicíclico que comprende un puente 4'-CH<sub>2</sub>-O-2'.

10 "Emparejamiento erróneo" o "nucleobase no complementaria" se refiere al caso en que una nucleobase de un primer ácido nucleico no se puede emparejar con la correspondiente nucleobase de un segundo ácido nucleico o ácido nucleico diana.

"Enlace internucleosídico modificado" se refiere a una sustitución o cualquier cambio de un enlace internucleosídico natural (es decir, un enlace internucleosídico fosfodiéster).

15 "Nucleobase modificada" quiere decir cualquier nucleobase distinta de adenina, citosina, guanina, timidina o uracilo. Una "nucleobase no modificada" quiere decir las bases purínicas adenina (A) y guanina (G), y las bases pirimidínicas timina (T), citosina (C) y uracilo (U).

20 "Nucleósido modificado" quiere decir un nucleósido que tiene, independientemente, un resto glucídico modificado y/o una nucleobase modificada.

"Nucleótido modificado" quiere decir un nucleótido que tiene, independientemente, un resto glucídico modificado, enlace internucleosídico modificado o nucleobase modificada.

25 "Oligonucleótido modificado" quiere decir un oligonucleótido que comprende al menos un enlace internucleosídico modificado, un glúcido modificado y/o una nucleobase modificada.

"Glúcido modificado" quiere decir sustitución y/o cualquier cambio de un resto glucídico natural.

30 "Modular" se refiere a cambiar o ajustar un rasgo característico en una célula, tejido, órgano u organismo. Por ejemplo, modular ARNm de CFB puede querer decir incrementar o disminuir el nivel de ARNm de CFB y/o proteína de CFB en una célula, tejido, órgano u organismo. Un "modulador" efectúa el cambio en la célula, tejido, órgano u organismo. Por ejemplo, un compuesto antisentido de CFB puede ser un modulador que disminuye la cantidad de ARNm de CFB y/o proteína de CFB en una célula, tejido, órgano u organismo.

35 "Monómero" se refiere a una sola unidad de un oligómero. Los monómeros incluyen, pero no se limitan a, nucleósidos y nucleótidos, ya sean naturales o modificados.

40 "Sistema de anillo mono o policíclico" pretende incluir todos los sistemas de anillo seleccionados de sistemas de anillo de radical único o policíclico en los que los anillos están fusionados o enlazados y pretende la inclusión de sistemas de anillo único y mixto seleccionados individualmente de alifático, alicíclico, arilo, heteroarilo, aralquilo, arilalquilo, heterocíclico, heteroarilo, heteroaromático y heteroarilalquilo. Dichas estructuras mono y policíclicas pueden contener anillos que tienen cada uno el mismo nivel de saturación o cada uno, independientemente, tiene grados variables de saturación incluyendo totalmente saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado. Cada anillo puede comprender átomos de anillo seleccionados de C, N, O y S para dar lugar a anillos heterocíclicos, así como anillos que comprenden solo átomos de anillo de C que pueden estar presentes en un motivo mixto tal como, por ejemplo, bencimidazol, en el que un anillo tiene solo átomos de anillo de carbono y el anillo fusionado tiene dos átomos de nitrógeno. El sistema de anillo mono o policíclico puede estar sustituido además con grupos sustituyentes tales como, por ejemplo, ftalimida que tiene dos grupos =O unidos a uno de los anillos. Los sistemas de anillo mono o policíclicos se pueden unir a moléculas originales usando diversas estrategias tales como directamente a través de un átomo del anillo, fusionado a través de múltiples átomos del anillo, a través de un grupo sustituyente o a través de un resto de enlace bifuncional.

"Motivo" quiere decir el patrón de nucleósidos no modificados y modificados en un compuesto antisentido.

55 "Resto glucídico natural" quiere decir un resto glucídico hallado en el ADN (2'-H) o ARN (2'-OH).

"Enlace internucleosídico natural" quiere decir un enlace fosfodiéster 3' a 5'.

60 "Grupo de enlace neutro" quiere decir un grupo de enlace que no se carga. Los grupos de enlace neutros incluyen sin limitación, fosfotriésteres, metilfosfonatos, MMI (-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-O-), amida-3 (-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(H)-), amida-4 (-CH<sub>2</sub>-N(H)-C(=O)-), formacetal (-O-CH<sub>2</sub>-O-) y tioformacetal (-S-CH<sub>2</sub>-O-). Otros grupos de enlace neutros incluyen enlaces no iónicos que comprenden siloxano (dialquilsiloxano), éster de carboxilato, carboxamida, sulfuro, éster de sulfonato y amidas (véase por ejemplo: Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y.S. Sanghvi and P.D. Cook Eds. ACS Symposium Series 580; capítulos 3 y 4, (pp. 40-65)). Otros grupos de enlace neutros incluyen enlaces no iónicos que comprenden partes componentes de N, O, S y CH<sub>2</sub> mixtas.



"Nucleobase no complementaria" se refiere a un par de nucleobases que no forman enlaces de hidrógeno entre sí ni soportan de otro modo la hibridación.

"Grupo de enlace neutro no internucleosídico" quiere decir un grupo de enlace neutro que no enlaza directamente dos nucleósidos. En determinados modos de realización, un grupo de enlace neutro no internucleosídico enlaza un nucleósido a un grupo distinto de un nucleósido. En determinados modos de realización, un grupo de enlace neutro no internucleosídico enlaza dos grupos, de los que ninguno es un nucleósido.

"Grupo de enlace de fósforo no internucleosídico" quiere decir un grupo de enlace de fósforo que no enlaza directamente dos nucleósidos. En determinados modos de realización, un grupo de enlace de fósforo no internucleosídico enlaza un nucleósido a un grupo distinto de un nucleósido. En determinados modos de realización, un grupo de enlace de fósforo no internucleosídico enlaza dos grupos, de los que ninguno es un nucleósido.

"Ácido nucleico" se refiere a moléculas compuestas por nucleótidos monoméricos. Un ácido nucleico incluye, pero no se limita a, ácidos ribonucleicos (ARN), ácidos desoxirribonucleicos (ADN), ácidos nucleicos monocatenarios y ácidos nucleicos bicatenarios.

"Nucleobase" quiere decir un resto heterocíclico que se puede emparejar con una base de otro ácido nucleico.

"Complementariedad de nucleobases" se refiere a una nucleobase que puede realizar emparejamiento de bases con otra nucleobase. Por ejemplo, en el ADN, adenina (A) es complementaria a timina (T). Por ejemplo, en el ARN, adenina (A) es complementaria a uracilo (U). En determinados modos de realización, nucleobase complementaria se refiere a una nucleobase de un compuesto antisentido que puede realizar emparejamiento de bases con una nucleobase de su ácido nucleico diana. Por ejemplo, si una nucleobase en una determinada posición de un compuesto antisentido puede formar enlaces de hidrógeno con una nucleobase en una determinada posición de un ácido nucleico diana, entonces se considera que la posición del enlace de hidrógeno entre el oligonucleótido y el ácido nucleico diana es complementaria en ese par de nucleobases.

"Motivo de modificación de nucleobase" quiere decir un patrón de modificaciones a nucleobases a lo largo de un oligonucleótido. A menos que se indique de otro modo, un motivo de modificación de nucleobase es independiente de la secuencia de nucleobase.

"Secuencia de nucleobases" quiere decir el orden de nucleobases contiguas independientemente de cualquier modificación de glúcido, enlace y/o nucleobase.

"Nucleósido" quiere decir una nucleobase enlazada a un glúcido.

"Mimético nucleosídico" incluye las estructuras usadas para reemplazar el glúcido o el glúcido y la base y no necesariamente el enlace en una o más posiciones de un compuesto oligomérico tales como, por ejemplo, miméticos nucleosídicos que tienen morfolino, ciclohexenilo, ciclohexilo, tetrahidropiranilo o miméticos glucídicos biciclo o triciclo, por ejemplo, unidades glucídicas distintas de furanosa. Los miméticos de nucleótidos incluyen las estructuras usadas para reemplazar el nucleósido y el enlace en una o más posiciones de un compuesto oligomérico tal como, por ejemplo, ácidos nucleicos peptídicos o morfolinos (morfolinos enlazados por -N(H)-C(=O)-O- u otro enlace distinto de fosfodiéster). El sustituto glucídico se superpone con el mimético nucleosídico de término ligeramente más amplio, pero pretende indicar solo el reemplazo de la unidad glucídica (anillo furanosa). Los anillos tetrahidropiranilo proporcionados en el presente documento son ilustrativos de un ejemplo de un sustituto glucídico en el que el grupo glucídico furanosa se ha reemplazado con un sistema de anillo tetrahidropiranilo. "Mimético" se refiere a grupos que se sustituyen por un glúcido, una nucleobase y/o un enlace internucleosídico. En general, se usa un mimético en lugar del glúcido o combinación de enlace glúcido-internucleosídico, y la nucleobase se mantiene para la hibridación a una diana seleccionada.

"Motivo nucleosídico" quiere decir un patrón de modificaciones nucleosídicas en un oligonucleótido o una región del mismo. Los enlaces de dicho oligonucleótido pueden estar modificados o no modificados. A menos que se indique de otro modo, los motivos en el presente documento que describen solo nucleósidos pretenden ser motivos nucleosídicos. Por tanto, en dichos casos, los enlaces no están limitados.

"Nucleótido" quiere decir un nucleósido que tiene un grupo fosfato enlazado covalentemente a la porción glucídica del nucleósido.

"Compuesto oligomérico" quiere decir un polímero de subunidades monoméricas enlazadas que se puede hibridar a al menos una región de una molécula de ácido nucleico.

"Oligonucleósido" quiere decir un oligonucleótido en el que los enlaces internucleosídicos no contienen un átomo de fósforo.

"Oligonucleótido" quiere decir un polímero de nucleósidos enlazados, de los que cada uno puede estar modificado o no modificado, independientemente entre sí.

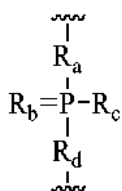
"Administración parenteral" quiere decir administración a través de inyección o infusión. Administración parenteral incluye administración subcutánea, administración intravenosa, administración intramuscular, administración intraarterial, administración intraperitoneal o administración intracraneal, por ejemplo, administración intratecal o intracerebroventricular.

"Composición farmacéutica" quiere decir una mezcla de sustancias adecuada para administrar a un individuo. Por ejemplo, una composición farmacéutica puede comprender uno o más agentes farmacéuticos activos y una solución acuosa estéril.

"Sales farmacéuticamente aceptables" quiere decir sales fisiológica y farmacéuticamente aceptables de compuestos antisentido, es decir, sales que conservan la actividad biológica deseada del oligonucleótido original y no confieren efectos toxicológicos no deseados al mismo.

"Enlace fosforotioato" quiere decir un enlace entre nucleósidos donde el enlace fosfodiéster se modifica reemplazando uno de los átomos de oxígeno que no forma puente con un átomo de azufre. Un enlace fosforotioato es un enlace internucleosídico modificado.

"Grupo de enlace de fósforo" quiere decir un grupo de enlace que comprende un átomo de fósforo. Los grupos de enlace de fósforo incluyen sin limitación, grupos que tienen la fórmula:



en la que:

$R_a$  y  $R_d$  son cada uno, independientemente, O, S,  $CH_2$ , NH, o  $NJ_1$  en la que  $J_1$  es alquilo  $C_1-C_6$  o alquilo  $C_1-C_6$  sustituido;

$R_b$  es O S;

$R_c$  es OH, SH, alquilo  $C_1-C_6$ , alquilo  $C_1-C_6$  sustituido, alcoxi  $C_1-C_6$ , alcoxi  $C_1-C_6$  sustituido, amino o amino sustituido; y

$J_1$  es R o S.

Los grupos de enlace de fósforo incluyen sin limitación, fosfodiéster, fosforotioato, fosforoditioato, fosfonato, fosforamidato, fosforotioamidato, tionoalquilfosfonato, fosfotriésteres, tionoalquilfosfotriéster y boranofosfato.

"Porción" quiere decir un número definido de nucleobases contiguas (es decir, enlazadas) de un ácido nucleico. En determinados modos de realización, una porción es un número definido de nucleobases contiguas de un ácido nucleico diana. En determinados modos de realización, una porción es un número definido de nucleobases contiguas de un compuesto antisentido

"Prevenir" se refiere a retrasar o evitar la aparición, desarrollo o progresión de una enfermedad, trastorno o afección durante un período de tiempo de minutos a indefinidamente. Prevenir también quiere decir reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección.

"Profármaco" quiere decir una forma inactiva o menos activa de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto, se metaboliza para formar el compuesto activo o más activo (por ejemplo, fármaco).

"Cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un agente farmacéutico que proporciona un beneficio profiláctico o preventivo a un animal.

"Grupo protector" quiere decir cualquier compuesto o grupo protector conocido para los expertos en la técnica. Los ejemplos no limitantes de grupos protectores se pueden encontrar en "Protective Groups in Organic Chemistry", T. W. Greene, P. G. M. Wuts, ISBN 0-471-62301-6, John Wiley & Sons, Inc, New York.

"Región" se define como una porción del ácido nucleico diana que tiene al menos una estructura, función o

característica identificable.

"Ribonucleótido" quiere decir un nucleótido que tiene un hidroxilo en la posición 2' de la porción glucídica del nucleótido. Los ribonucleótidos se pueden modificar con cualquiera de una variedad de sustituyentes.

"Compuesto antisentido basado en RISC" quiere decir un compuesto antisentido en el que al menos parte de la actividad antisentido del compuesto antisentido es atribuible al complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC).

"Compuesto antisentido basado en RNasa H" quiere decir un compuesto antisentido en el que al menos parte de la actividad antisentido del compuesto antisentido es atribuible a la hibridación del compuesto antisentido con un ácido nucleico diana y posterior escisión del ácido nucleico diana por la RNasa H.

"Segmentos" se definen como porciones más pequeñas o subporciones de regiones dentro de un ácido nucleico diana.

"Regiones separadas" quiere decir porciones de un oligonucleótido en las que las modificaciones químicas o el motivo de las modificaciones químicas de cualquier porción vecina incluyen al menos una diferencia para permitir que las regiones separadas se distingan entre sí.

"Motivo de secuencia" quiere decir un patrón de nucleobases dispuestas a lo largo de un oligonucleótido o una porción del mismo. A menos que se indique de otro modo, un motivo de secuencia es independiente de las modificaciones químicas y por tanto, puede tener cualquier combinación de modificaciones químicas, incluyendo sin modificaciones químicas.

"Efectos secundarios" quiere decir enfermedades y/o afecciones fisiológicas atribuibles a un tratamiento distinto de los efectos deseados. En determinados modos de realización, los efectos secundarios incluyen reacciones en el sitio de inyección, anomalías en las pruebas de función hepática, anomalías de la función renal, toxicidad hepática, toxicidad renal, alteraciones del sistema nervioso central, miopatías y malestar general. Por ejemplo, un incremento en los niveles de aminotransferasa en suero puede indicar toxicidad hepática o anomalía de la función hepática. Por ejemplo, un incremento en los niveles de bilirrubina puede indicar toxicidad hepática o anomalía de la función hepática.

"Sitios", como se usa en el presente documento, se definen como posiciones de nucleobases únicas dentro de un ácido nucleico diana.

"Ralentiza la progresión" quiere decir disminución en el desarrollo de la dicha enfermedad.

"Específicamente hibridable" se refiere a un compuesto antisentido que tiene un grado suficiente de complementariedad entre un oligonucleótido antisentido y un ácido nucleico diana para inducir un efecto deseado, presentando al mismo tiempo efectos mínimos o nulos sobre los ácidos nucleicos distintos de diana en condiciones en las que se desea una unión específica, es decir, en condiciones fisiológicas en el caso de ensayos *in vivo* y tratamientos terapéuticos. "Condiciones de hibridación rigurosas" o "condiciones rigurosas" se refieren a condiciones en las que un compuesto oligomérico se hibridará a su secuencia diana, pero a un número mínimo de otras secuencias.

"Sujeto" quiere decir un animal humano o no humano seleccionado para tratamiento.

"Sustituyente" y "grupo sustituyente" quiere decir un átomo o grupo que reemplaza al átomo o grupo de un compuesto original mencionado. Por ejemplo, un sustituyente de un nucleósido modificado es cualquier átomo o grupo que difiere del átomo o grupo hallado en un nucleósido natural (por ejemplo, un sustituyente 2' modificado es cualquier átomo o grupo en la posición 2' de un nucleósido distinto de H u OH). Los grupos sustituyentes pueden estar protegidos o no protegidos. En determinados modos de realización, los compuestos de la presente divulgación tienen sustituyentes en una o en más de una posición del compuesto original. Los sustituyentes también pueden estar sustituidos además con otros grupos sustituyentes y pueden estar unidos directamente o por medio de un grupo de enlace tal como un grupo alquilo o hidrocarbilo, a un compuesto original.

Asimismo, como se usa en el presente documento, "sustituyente" en referencia a un grupo funcional químico quiere decir un átomo o grupo de átomos que difiere del átomo o grupo de átomos normalmente presente en el grupo funcional mencionado. En determinados modos de realización, un sustituyente reemplaza un átomo de hidrógeno del grupo funcional (por ejemplo, en determinados modos de realización, el sustituyente de un grupo metilo sustituido es un átomo o grupo distinto de hidrógeno que reemplaza uno de los átomos de hidrógeno de un grupo metilo no sustituido). A menos que se indique de otro modo, los grupos susceptibles para su uso como sustituyentes incluyen sin limitación, halógeno, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, acilo (-C(O)Raa), carboxilo (-C(O)O-Raa), grupos alifáticos, grupos alicíclicos, alcoxi, oxo sustituido (-O-Raa), arilo, aralquilo, radical heterocíclico, heteroarilo, heteroarilalquilo, amino (N(Rbb)(Rcc)), imino(=NRbb), amido (C(O)N(Rbb)(Rcc) o N(Rbb)C(O)Raa), ácido (-N3),

- nitro (NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), carbamido (OC(O)N(Rbb)(Rcc) o N(Rbb)C(O)ORaa), ureido (N(Rbb)C(O)N(Rbb)(Rcc)), tioureido (N(Rbb)C(S)N(Rbb)(Rcc)), guanidinilo (N(Rbb)C(=NRbb)-N(Rbb)(Rcc)), amidinilo (C(=NRbb)N(Rbb)(Rcc) o N(Rbb)C(=NRbb)(Raa)), tiol (-SRbb), sulfinilo (S(O)Rbb), sulfonilo (-S(O)2Rbb) y sulfonamidilo (-S(O)2N(Rbb)(Rcc) o N(Rbb)S(O)2Rbb), en los que cada Raa, Rbb y Rcc es, independientemente, H, un grupo funcional químico opcionalmente enlazado u otro grupo sustituyente con una lista preferente que incluye sin limitación, alquilo, alquenilo, alquinilo, alifático, alcoxi, acilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, alicíclico, heterocíclico y heteroarilalquilo. Los sustituyentes seleccionados dentro de los compuestos descritos en el presente documento están presentes en un grado recursivo.
- 5 "Resto glucídico sustituido" quiere decir un furanosilo que no es un resto glucídico natural. Los restos glucídicos sustituidos incluyen, pero no se limitan a, furanosilos que comprenden sustituyentes en la posición 2', la posición 3', la posición 5' y/o la posición 4'. Determinados restos glucídicos sustituidos son restos glucídicos bicíclicos.
- 10 "Resto glucídico" quiere decir un resto glucídico natural o un resto glucídico modificado de un nucleósido.
- 15 "Motivo glucídico" quiere decir un patrón de modificaciones glucídicas en un oligonucleótido o una región del mismo.
- 20 "Sustituto glucídico" quiere decir una estructura que no comprende un furanosilo y que puede reemplazar el resto glucídico natural de un nucleósido, de modo que las subunidades nucleosídicas resultantes se pueden enlazar entre sí y/o unirse a otros nucleósidos para formar un compuesto oligomérico que se puede hibridar a un compuesto oligomérico complementario. Dichas estructuras incluyen anillos que comprenden un número de átomos diferente de furanosilo (por ejemplo, anillos de 4, 6 o 7 miembros); reemplazo del oxígeno de un furanosilo con un átomo distinto de oxígeno (por ejemplo, carbono, azufre o nitrógeno); o tanto un cambio en el número de átomos como un reemplazo del oxígeno. Dichas estructuras también pueden comprender sustituciones correspondientes a las descritas para restos glucídicos sustituidos (por ejemplo, sustitutos glucídicos bicíclicos carbocíclicos de 6 miembros que comprenden opcionalmente sustituyentes adicionales). Los sustitutos glucídicos también incluyen reemplazos glucídicos más complejos (por ejemplo, los sistemas sin anillo de ácido nucleico peptídico). Los sustitutos glucídicos incluyen sin limitación, morfolinos, ciclohexenilos y ciclohexitoles.
- 25 30 "Diana" se refiere a una proteína, con una modulación que se desea.
- "Gen diana" se refiere a un gen que codifica una diana.
- 35 "Dirigido" quiere decir el proceso de diseño y selección de un compuesto antisentido que se hibridará específicamente a un ácido nucleico diana e inducirá un efecto deseado.
- "Ácido nucleico diana", "ARN diana", "transcrito de ARN diana" y "ácido nucleico diana" quieren decir todos un ácido nucleico al que se pueden dirigir compuestos antisentido.
- 40 "Región diana" quiere decir una porción de un ácido nucleico diana al que se dirigen uno o más compuestos antisentido.
- 45 "Segmento diana" quiere decir la secuencia de nucleótidos de un ácido nucleico diana al que se dirige un compuesto antisentido. "Sitio diana 5'" se refiere al nucleótido más hacia 5' de un segmento diana. "Sitio diana 3'" se refiere al nucleótido más hacia 3' de un segmento diana.
- "Grupo terminal" quiere decir uno o más átomos unidos a cualquiera, o ambos, del extremo 3' o el extremo 5' de un oligonucleótido. En determinados modos de realización, un grupo terminal es un grupo conjugado. En determinados modos de realización, un grupo terminal comprende uno o más nucleósidos de grupo terminal.
- 50 "Enlace internucleosídico terminal" quiere decir el enlace entre los dos últimos nucleósidos de un oligonucleótido o región definida del mismo.
- 55 "Cantidad terapéuticamente eficaz" quiere decir una cantidad de un agente farmacéutico que proporciona un beneficio terapéutico a un individuo.
- 60 "Tratar" se refiere a administrar una composición farmacéutica a un animal para efectuar una alteración o mejora de una enfermedad, trastorno o afección en el animal. En determinados modos de realización, una o más composiciones farmacéuticas se pueden administrar al animal.
- Nucleobases "no modificadas" quieren decir las bases purínicas adenina (A) y guanina (G), y las bases pirimidínicas timina (T), citosina (C) y uracilo (U).
- 65 "Nucleótido no modificado" quiere decir un nucleótido compuesto de nucleobases, restos glucídicos y enlaces internucleosídicos naturales. En determinados modos de realización, un nucleótido no modificado es un nucleótido

de ARN (es decir,  $\beta$ -D-ribonucleósidos) o un nucleótido de ADN (es decir,  $\beta$ -D-desoxirribonucleósido).

#### Determinados modos de realización

- 5 En la invención reivindicada, el compuesto comprende un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 16 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 198, 228, 237, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598.
- 10 En determinados modos de realización, un compuesto comprende un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que consiste en una cualquiera de SEQ ID NO: 198, 228, 237, 444, 448, 450, 453, 455, 549, y 598.
- 15 En determinados modos de realización, cualquiera de los compuestos u oligonucleótidos anteriores puede comprender al menos un enlace internucleosídico modificado, al menos un glúcido modificado y/o al menos una nucleobase modificada.
- 20 Los compuestos u oligonucleótidos anteriores comprenden al menos un glúcido modificado. En determinados aspectos, al menos un glúcido modificado comprende un grupo 2'-O-metoxietilo. En determinados aspectos, al menos un glúcido modificado es un glúcido bicíclico, tal como un grupo 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2', un grupo 4'-CH<sub>2</sub>-O-2' o un grupo 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'.
- 25 En determinados aspectos, el oligonucleótido modificado comprende al menos un enlace internucleosídico modificado, tal como un enlace internucleosídico fosforotioato.
- En determinados modos de realización, el oligonucleótido modificado comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 enlaces internucleosídicos fosfodiéster.
- 30 En determinados modos de realización, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado se selecciona de un enlace internucleosídico fosfodiéster y un enlace internucleosídico fosforotioato.
- En determinados modos de realización, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace fosforotioato.
- 35 En determinados modos de realización, cualquiera de los compuestos u oligonucleótidos anteriores comprende al menos una nucleobase modificada, tal como 5-metilcitosina.
- En la invención reivindicada, el compuesto comprende un grupo conjugado y un oligonucleótido modificado que comprende:
- 40 un segmento de hueco que consiste en desoxinucleósidos enlazados;
- un segmento de ala 5' que consiste en nucleósidos enlazados; y
- 45 un segmento de ala 3' que consiste en nucleósidos enlazados;
- en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3' y en el que cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un glúcido modificado.
- 50 En determinados modos de realización, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende o que consiste en la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 198, 228, 237, 444, 448, 450, 453 o 455, en el que el oligonucleótido modificado comprende:
- un segmento de hueco que consiste en diez desoxinucleósidos enlazados;
- 55 un segmento de ala 5' que consiste en cinco nucleósidos enlazados; y
- un segmento de ala 3' que consiste en cinco nucleósidos enlazados;
- 60 en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en el que cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un glúcido 2'-O-metoxietilo; en el que cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato y en el que cada citosina es una 5-metilcitosina.
- 65 En determinados modos de realización, un compuesto comprende o consiste en un oligonucleótido modificado monocatenario y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en 20 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que consiste en la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 198, 228, 237, 444, 448, 450, 453 o 455, en el que el oligonucleótido comprende:

un segmento de hueco que consiste en diez desoxinucleósidos enlazados;

un segmento de ala 5' que consiste en cinco nucleósidos enlazados; y

un segmento de ala 3' que consiste en cinco nucleósidos enlazados;

en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en el que cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un glúcido 2'-O-metoxietilo; en el que cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato; y en el que cada citosina es una 5-metilcitosina.

En determinados modos de realización, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende o que consiste en la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 549, en el que el oligonucleótido modificado comprende

un segmento de hueco que consiste en diez desoxinucleósidos enlazados;

un segmento de ala 5' que consiste en tres nucleósidos enlazados; y

un segmento de ala 3' que consiste en tres nucleósidos enlazados;

en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en el que cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un glúcido cEt; en el que cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato y en el que cada citosina es una 5-metilcitosina.

En determinados aspectos, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende o que consiste en la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 598, en el que el oligonucleótido modificado comprende

un segmento de hueco que consiste en diez desoxinucleósidos enlazados;

un segmento de ala 5' que consiste en tres nucleósidos enlazados; y

un segmento de ala 3' que consiste en tres nucleósidos enlazados;

en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3'; en el que el segmento de ala 5' comprende un glúcido 2'-O-metoxietilo, glúcido 2'-O-metoxietilo y glúcido cEt en la dirección 5' a 3'; en el que el segmento de ala 3' comprende un glúcido cEt, glúcido cEt y glúcido 2'-O-metoxietilo en la dirección 5' a 3'; en el que cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato; y en el que cada citosina es una 5-metilcitosina.

En cualquiera de los modos de realización anteriores, el compuesto u oligonucleótido puede ser al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o 100 % complementario a un ácido nucleico que codifica CFB.

En la invención reivindicada, el compuesto u oligonucleótido es monocatenario.

En determinados modos de realización, el grupo conjugado se enlaza al oligonucleótido modificado en el extremo 5' del oligonucleótido modificado. En determinados modos de realización, el grupo conjugado se enlaza al oligonucleótido modificado en el extremo 3' del oligonucleótido modificado. En la invención reivindicada, el grupo conjugado comprende tres *N*-acetilgalactosaminas (GalNAc).

Determinados modos de realización incluyen composiciones que comprenden cualquiera de los compuestos de la invención que comprenden o consisten en un oligonucleótido modificado dirigido a CFB o una sal del mismo y un grupo conjugado, y al menos uno de un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En determinados modos de realización, los compuestos o composiciones como se describe en el presente documento son eficaces en virtud de tener al menos una de  $CI_{50}$  *in vitro* de menos de 250 nM, menos de 200 nM, menos de 150 nM, menos de 100 nM, menos de 90 nM, menos de 80 nM, menos de 70 nM, menos de 65 nM, menos de 60 nM, menos de 55 nM, menos de 50 nM, menos de 45 nM, menos de 40 nM, menos de 35 nM, menos de 30 nM, menos de 25 nM o menos de 20 nM.

En determinados modos de realización, los compuestos o composiciones como se describe en el presente documento son altamente tolerables como se demuestra al tener al menos uno de un incremento en el valor de ALT o AST de no más de 4 veces, 3 veces o 2 veces en animales tratados con solución salina o un incremento en peso de hígado, bazo o riñón de no más de un 30 %, 20 %, 15 %, 12 %, 10 %, 5 % o 2 %. En determinados modos de realización, los compuestos o composiciones que se describe en el presente documento son altamente tolerables como se demuestra al no tener un incremento de ALT o AST sobre animales tratados con solución

salina. En determinados modos de realización, los compuestos o composiciones como se describe en el presente documento son altamente tolerables como se demuestra al no tener un incremento en el peso de hígado, bazo o riñón sobre animales tratados con solución salina.

5 Determinados modos de realización proporcionan una composición que comprende el compuesto de cualquiera de los modos de realización mencionadas anteriormente o una sal del mismo y al menos uno de un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. En determinados aspectos, la composición tiene una viscosidad menor de aproximadamente 40 centipoise (cP, 1 cP = 1 mPa·s), menor de aproximadamente 30 centipoise (cP), menor de aproximadamente 20 centipoise (cP), menor de aproximadamente 15 centipoise (cP), o menor de aproximadamente 10 centipoise (cP). En determinados aspectos, la composición que tiene cualquiera de las viscosidades mencionadas anteriormente comprende un compuesto proporcionado en el presente documento a una concentración de aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 125 mg/ml, aproximadamente 150 mg/ml, aproximadamente 175 mg/ml, aproximadamente 200 mg/ml, aproximadamente 225 mg/ml, aproximadamente 250 mg/ml, aproximadamente 275 mg/ml o aproximadamente 300 mg/ml. En determinados aspectos, la composición que tiene cualquiera de las viscosidades y/o concentraciones de compuesto mencionadas anteriormente tiene una temperatura de temperatura ambiente o aproximadamente 20 °C, aproximadamente 21 °C, aproximadamente 22 °C, aproximadamente 23 °C, aproximadamente 24 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 26 °C, aproximadamente 27 °C, aproximadamente 28 °C, aproximadamente 29 °C o aproximadamente 30 °C.

En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto o composición descrito en el presente documento, tratando, previniendo o mejorando de este modo la enfermedad. En determinados aspectos, la vía alternativa del complemento se activa más de lo normal. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de una cualquiera de SEQ ID NO: 6-808. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970.

En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular, tal como la degeneración macular senil (DMS) en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto o composición descrito en el presente documento, tratando, previniendo o mejorando de este modo la DMS. En determinados aspectos, la vía alternativa del complemento se activa más de lo normal. En determinados aspectos, la DMS es DMS húmeda. En determinados aspectos, la DMS es DMS seca, tal como atrofia geográfica. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular en un sujeto, tal como degeneración macular senil (DMS), DMS húmeda, DMS seca o atrofia geográfica comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de una cualquiera de SEQ ID NO: 6-808. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular, tal como degeneración macular senil (DMS), DMS húmeda, DMS seca o atrofia geográfica en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular, tal como degeneración macular relacionada senil (DMS), DMS húmeda, DMS seca o atrofia geográfica en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En determinados aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral.

En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar una nefropatía asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto o composición descrito en el presente documento, tratando, previniendo o mejorando de este modo la nefropatía. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar una nefropatía asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del

complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de una cualquiera de SEQ ID NO: 6-808. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar una nefropatía asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para tratar, prevenir o mejorar una nefropatía asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En determinados aspectos, la vía alternativa del complemento se activa más de lo normal. En determinados aspectos, la nefropatía es nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (EDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5 o síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), o cualquier combinación de los mismos. En determinados aspectos, la nefropatía se asocia con depósitos de C3, tales como depósitos de C3 en el glomérulo. En determinados aspectos, la nefropatía se asocia con niveles de C3 circulantes menores de lo normal, tales como niveles de C3 en suero o plasma. En determinados aspectos, administrar el compuesto o composición reduce o inhibe la acumulación de niveles de C3 oculares, tales como niveles de proteína C3. En determinados aspectos, administrar el compuesto o composición reduce el nivel de depósitos de C3 oculares o inhibe la acumulación de depósitos de C3 oculares. En determinados aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral. En determinados aspectos, administrar el compuesto o composición reduce o inhibe la acumulación de niveles de C3 en el riñón, tales como niveles de proteína C3. En determinados aspectos, administrar el compuesto o composición reduce el nivel de depósitos de C3 en el riñón o inhibe la acumulación de depósitos de C3 en el riñón, tales como niveles de C3 en el glomérulo. En determinados aspectos, se identifica que el sujeto tiene o está en riesgo de tener una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento, por ejemplo, detectando niveles del complemento o niveles del complejo de ataque de membrana en la sangre del sujeto y/o realizando una prueba genética para detectar mutaciones génicas de factores del complemento asociadas con la enfermedad.

En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para inhibir la expresión del factor B del complemento (CFB) en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar un compuesto o composición descrito en el presente documento al sujeto, inhibiendo de este modo la expresión de CFB en el sujeto. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para inhibir la expresión del factor B del complemento (CFB) en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de una cualquiera de SEQ ID NO: 6-808. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para inhibir la expresión del factor B del complemento (CFB) en un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En determinados aspectos, administrar el compuesto o composición inhibe la expresión de CFB en el ojo. En determinados aspectos, el sujeto tiene, o está en riesgo de tener, degeneración macular senil (DMS), tal como DMS húmeda y DMS seca. En determinados aspectos, la DMS seca puede ser atrofia geográfica. La atrofia geográfica se considera una forma avanzada de DMS seca que implica degeneración de la retina. En determinados aspectos, administrar el compuesto o composición inhibe la expresión de CFB en el riñón, tal como en el glomérulo. En determinados aspectos, el sujeto tiene, o está en riesgo de tener, nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (EDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5 o síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), o cualquier combinación de los mismos.

En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar un compuesto o composición descrito en el presente documento al sujeto, reduciendo o inhibiendo de este modo la acumulación de depósitos de C3 en el ojo del sujeto. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el



que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de una cualquiera de SEQ ID NO: 6-808. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el ojo de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En determinados aspectos, el sujeto tiene, o está en riesgo de tener, degeneración macular senil (DMS), tal como DMS húmeda y DMS seca. En determinados aspectos, la DMS seca puede ser atrofia geográfica. En determinados aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral.

En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el riñón de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar un compuesto o composición descrito en el presente documento al sujeto, reduciendo o inhibiendo de este modo la acumulación de depósitos de C3 en el riñón del sujeto. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el riñón de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de una cualquiera de SEQ ID NO: 6-808. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el riñón de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598. En determinados modos de realización de la divulgación, un procedimiento para reducir o inhibir la acumulación de depósitos de C3 en el riñón de un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento comprende administrar al sujeto un compuesto que comprende o que consiste en ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970. En determinados aspectos, el sujeto tiene, o está en riesgo de tener, nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (EDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5 o síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), o cualquier combinación de los mismos. En determinados aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral.

Determinados modos de realización de la divulgación se refieren al uso de un compuesto o composición descrito en el presente documento para tratar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento. Determinados modos de realización de la divulgación se refieren al uso de un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia de nucleobases de una cualquiera de SEQ ID NO: 6-808, para tratar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento. Determinados modos de realización de la divulgación se refieren al uso de un compuesto que comprende o que consiste en un oligonucleótido modificado y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 y 598, para tratar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento. Determinados modos de realización de la divulgación se refieren al uso de un compuesto que comprende o que consiste en ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 o ISIS 698970 para tratar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento. En determinados aspectos, la vía alternativa del complemento se activa más de lo normal. En determinados aspectos, la enfermedad es degeneración macular, tal como degeneración macular senil (DMS), que puede ser DMS húmeda o DMS seca. En determinados aspectos, la DMS seca puede ser atrofia geográfica. En determinados aspectos, la enfermedad es una nefropatía tal como nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (EDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5 o síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), o cualquier combinación. del mismo. En determinados aspectos, el compuesto o composición se administra al sujeto por vía parenteral.

En determinados modos de realización de la divulgación, un compuesto o composición descrito en el presente documento se administra por vía parenteral. Por ejemplo, en determinados modos de realización, el compuesto o composición se puede administrar a través de inyección o infusión. Administración parenteral incluye

administración subcutánea, administración intravenosa, administración intramuscular, administración intraarterial, administración intraperitoneal o administración intracraneal, por ejemplo, administración intratecal o intracerebroventricular.

## 5 Compuestos antisentido

Los compuestos oligoméricos incluyen, pero no se limitan a, oligonucleótidos, oligonucleósidos, análogos oligonucleotídicos, miméticos oligonucleotídicos, compuestos antisentido, oligonucleótidos antisentido y ARNip. Un compuesto oligomérico puede ser "antisentido" con respecto a un ácido nucleico diana, lo que quiere decir que puede experimentar hibridación a un ácido nucleico diana a través de enlaces de hidrógeno.

En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una secuencia de nucleobases que, cuando se escribe en dirección 5' a 3', comprende el complemento inverso del segmento diana de un ácido nucleico diana al que se dirige.

En la invención reivindicada, el compuesto antisentido tiene una longitud de 16 a 30 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 16 a 20 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 17 a 30 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 17 a 20 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 30 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 21 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 20 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 20 a 30 subunidades. En otras palabras, dichos compuestos antisentido son de 16 a 30 subunidades, de 16 a 20 subunidades, de 17 a 30 subunidades, de 17 a 20 subunidades, de 18 a 30 subunidades, de 18 a 20 subunidades, de 18 a 21 subunidades, de 20 a 30 subunidades, o de 12 a 22 subunidades enlazadas, respectivamente. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 16 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 17 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 19 subunidades. En determinados modos de realización, un compuesto antisentido tiene una longitud de 20 subunidades. En otros modos de realización, el compuesto antisentido tiene de 16 a 30, de 17 a 30, de 17 a 50, de 18 a 22, de 18 a 24, de 18 a 30, de 18 a 50, de 19 a 22, de 19 a 30, de 19 a 50 o de 20 a 30 subunidades enlazadas. En determinados de dichos modos de realización, los compuestos antisentido tienen una longitud de 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 subunidades enlazadas, o un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores anteriores. En algunos modos de realización, el compuesto antisentido es un oligonucleótido antisentido y las subunidades enlazadas son nucleótidos.

En determinados modos de realización, los oligonucleótidos antisentido se pueden acortar o truncar. Por ejemplo, una única subunidad puede deleccionar del extremo 5' (truncamiento en 5') o, de forma alternativa, del extremo 3' (truncamiento en 3'). Un compuesto antisentido acortado o truncado dirigido a un ácido nucleico de CFB puede tener dos subunidades deleccionadas del extremo 5', o de forma alternativa puede tener dos subunidades deleccionadas del extremo 3' del compuesto antisentido. De forma alternativa, los nucleósidos deleccionados se pueden dispersar por todo el compuesto antisentido, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene un nucleósido deleccionado del extremo 5' y un nucleósido deleccionado del extremo 3'.

Cuando una única subunidad adicional está presente en un compuesto antisentido alargado, la subunidad adicional se puede localizar en el extremo 5' o 3' del compuesto antisentido. Cuando dos o más subunidades adicionales están presentes, las subunidades añadidas pueden ser adyacentes entre sí, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene dos subunidades añadidas al extremo 5' (adición en 5'), o de forma alternativa al extremo 3' (adición en 3'), del compuesto antisentido. De forma alternativa, las subunidades añadidas se pueden dispersar por todo el compuesto antisentido, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene una subunidad añadida al extremo 5' y una subunidad añadida al extremo 3'.

Es posible incrementar o disminuir la longitud de un compuesto antisentido, tal como un oligonucleótido antisentido, y/o introducir bases de emparejamiento erróneo sin eliminar la actividad. Por ejemplo, en Woolf *et al.* (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992), se sometió a prueba una serie de oligonucleótidos antisentido de 13-25 nucleobases de longitud para determinar su capacidad de inducir la escisión de un ARN diana en un modelo de inyección de oocito. Los oligonucleótidos antisentido de 25 nucleobases de longitud con 8 u 11 bases de emparejamiento erróneo cerca de los extremos de los oligonucleótidos antisentido pudieron dirigir la escisión específica del ARNm diana, aunque en menor medida que los oligonucleótidos antisentido que no contenían emparejamientos erróneos. De forma similar, se logró la escisión específica de diana usando oligonucleótidos antisentido de 13 nucleobases, incluyendo los de 1 o 3 emparejamientos erróneos.

Gautschi *et al.* (J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, marzo de 2001) demostraron la capacidad de un oligonucleótido que tiene un 100 % de complementariedad con el ARNm de bcl-2 y que tiene 3 emparejamientos erróneos con el ARNm de bcl-xL para reducir la expresión tanto de bcl-2 como de bcl-xL *in vitro* e *in vivo*. Además, este

oligonucleótido demostró una potente actividad antitumoral *in vivo*.

Maher y Dolnick (*Nuc. Acid. Res.* 16:3341-3358,1988) sometieron a prueba una serie de oligonucleótidos antisentido de 14 nucleobases en tándem, y oligonucleótidos antisentido de 28 y 42 nucleobases compuestos de la secuencia de dos o tres de los oligonucleótidos antisentido en tándem, respectivamente, para determinar su capacidad para detener la traducción de DHFR humano en un ensayo de reticulocitos de conejo. Cada uno de los tres oligonucleótidos antisentido de 14 nucleobases por sí solo pudo inhibir la traducción, aunque a un nivel más moderado que los oligonucleótidos antisentido de 28 o 42 nucleobases.

## **Determinados motivos de compuestos antisentido y mecanismos**

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido tienen subunidades modificadas químicamente dispuestas en patrones, o motivos, para conferir a los compuestos antisentido propiedades tales como potenciación en la actividad inhibidora, incremento en la afinidad de unión por un ácido nucleico diana o resistencia a la degradación por nucleasas *in vivo*.

Los compuestos antisentido quiméricos típicamente contienen al menos una región modificada para conferir un incremento en la resistencia a la degradación por nucleasas, incremento en la captación celular, incremento en la afinidad de unión por el ácido nucleico diana y/o incremento en la actividad inhibidora. Una segunda región de un compuesto antisentido quimérico puede conferir otra propiedad deseada, por ejemplo, servir como sustrato para la endonucleasa celular RNasa H, que escinde la hebra de ARN de un dúplex ARN:ADN.

La actividad antisentido puede resultar de cualquier mecanismo que implica la hibridación del compuesto antisentido (por ejemplo, oligonucleótido) con un ácido nucleico diana, en el que la hibridación finalmente da como resultado un efecto biológico. En determinados modos de realización, se modula la cantidad y/o actividad del ácido nucleico diana. En determinados modos de realización, se reduce la cantidad y/o actividad del ácido nucleico diana. En determinados modos de realización, la hibridación del compuesto antisentido al ácido nucleico diana finalmente da como resultado la degradación del ácido nucleico diana. En determinados modos de realización, la hibridación del compuesto antisentido al ácido nucleico diana no da como resultado la degradación del ácido nucleico diana. En determinados de dichos modos de realización, la presencia del compuesto antisentido hibridado con el ácido nucleico diana (ocupación) da como resultado una modulación de la actividad antisentido. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido que tienen un motivo químico particular o patrón de modificaciones químicas son particularmente adecuados para explotar uno o más mecanismos. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido funcionan a través de más de un mecanismo y/o a través de mecanismos que no se han dilucidado. En consecuencia, los compuestos antisentido descritos en el presente documento no están limitados por un mecanismo particular.

Los mecanismos antisentido incluyen, sin limitación, antisentido mediado por RNasa H; mecanismos de ARNi, que utilizan la vía RISC e incluyen, sin limitación, mecanismos de ARNip, ARNmcc y microARN; y mecanismos basados en ocupación. Determinados compuestos antisentido pueden actuar a través de más de uno de dichos y/o a través de mecanismos adicionales.

## **Antisentido mediado por RNasa H**

En determinados modos de realización, la actividad antisentido resulta al menos en parte de la degradación del ARN diana por la RNasa H. La RNasa H es una endonucleasa celular que escinde la hebra de ARN de un dúplex ARN:ADN. Es conocido en la técnica que los compuestos antisentido monocatenarios que son "similares a ADN" provocan actividad RNasa H en células de mamífero. En consecuencia, los compuestos antisentido que comprenden al menos una porción de nucleósidos de ADN o similares a ADN pueden activar la RNasa H, lo que da como resultado la escisión del ácido nucleico diana. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido que utilizan RNasa H comprenden uno o más nucleósidos modificados. En determinados modos de realización, dichos compuestos antisentido comprenden al menos un bloque de 1-8 nucleósidos modificados. En determinados de dichos modos de realización, los nucleósidos modificados no soportan la actividad de la RNasa H. En determinados modos de realización, dichos compuestos antisentido son gápmers, como se describe en el presente documento. En determinados de dichos modos de realización, el hueco del gápmers comprende nucleósidos de ADN. En determinados de dichos modos de realización, el hueco del gápmers comprende nucleósidos similares a ADN. En determinados de dichos modos de realización, el hueco del gápmers comprende nucleósidos de ADN y nucleósidos similares a ADN.

Determinados compuestos antisentido que tienen un motivo gápmers se consideran compuestos antisentido quiméricos. En un gápmers, una región interna que tiene una pluralidad de nucleótidos que soporta la escisión por RNasa H se sitúa entre regiones externas que tienen una pluralidad de nucleótidos que son químicamente distintos de los nucleósidos de la región interna. En el caso de un oligonucleótido antisentido que tiene un motivo gápmers, el segmento de hueco en general sirve como sustrato para la escisión por endonucleasas, mientras que los segmentos de ala comprenden nucleósidos modificados. En determinados modos de realización, las regiones de un gápmers se diferencian por los tipos de restos glucídicos que comprende cada región distinta. Los tipos de

restos glucídicos que se usan para diferenciar las regiones de un gápmo pueden incluir en algunos modos de realización  $\beta$ -D-ribonucleósidos,  $\beta$ -D-desoxirribonucleósidos, nucleósidos 2'-modificados (dichos nucleósidos 2'-modificados pueden incluir 2'-MOE y 2'-O-CH<sub>3</sub>, entre otros), y nucleósidos modificados con glucídicos bicíclicos (dichos nucleósidos modificados con glucídicos bicíclicos pueden incluir los que tienen un etilo restringido). En determinados modos de realización, los nucleósidos en las alas pueden incluir varios restos glucídicos modificados, incluyendo, por ejemplo, restos glucídicos 2'-MOE y bicíclicos tales como etilo restringido o LNA. En determinados modos de realización, las alas pueden incluir varios restos glucídicos modificados y no modificados. En determinados modos de realización, las alas pueden incluir varias combinaciones de nucleósidos 2'-MOE, restos glucídicos bicíclicos tales como nucleósidos de etilo restringido o nucleósidos LNA y 2'-desoxinucleósidos.

Cada región distinta puede comprender restos glucídicos uniformes, restos glucídicos variantes o alternos. El motivo ala-hueco-ala se describe con frecuencia como "X-Y-Z", donde "X" representa la longitud del ala 5', "Y" representa la longitud del hueco y "Z" representa la longitud del ala 3'. "X" y "Z" pueden comprender restos glucídicos uniformes, variantes o alternos. En determinados modos de realización, "X" e "Y" pueden incluir uno o más 2'-desoxinucleósidos. "Y" puede comprender 2'-desoxinucleósidos. Como se usa en el presente documento, un gápmo descrito como "X-Y-Z" tiene una configuración tal que el hueco se sitúa inmediatamente adyacente a cada una del ala 5' y el ala 3'. Por tanto, no existen nucleótidos intermedios entre el ala 5' y el hueco, o entre el hueco y el ala 3'. Cualquiera de los compuestos antisentido descritos en el presente documento puede tener un motivo gápmo. En determinados modos de realización, "X" y "Z" son iguales; en otros modos de realización son diferentes. En determinados modos de realización, "Y" tiene entre 8 y 15 nucleósidos. X, Y o Z puede ser cualquiera de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30 o más nucleósidos.

En determinados modos de realización, el compuesto antisentido dirigido a un ácido nucleico de CFB tiene un motivo gápmo en el que el hueco consiste en 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 nucleósidos enlazados.

En determinados modos de realización, el oligonucleótido antisentido tiene un motivo glucídico descrito por la fórmula A como sigue: (J)<sub>m</sub>-(B)<sub>n</sub>-(J)<sub>p</sub>-(B)<sub>r</sub>-(A)<sub>t</sub>-(D)<sub>g</sub>-(A)<sub>v</sub>-(B)<sub>w</sub>-(J)<sub>x</sub>-(B)<sub>y</sub>-(J)<sub>z</sub>

en la que:

cada A es independientemente un nucleósido 2'-sustituido;

cada B es independientemente un nucleósido bicíclico;

cada J es independientemente un nucleósido 2'-sustituido o un 2'-desoxinucleósido;

cada D es un 2'-desoxinucleósido;

m es 0-4; n es 0-2; p es 0-2; r es 0-2; t es 0-2; v es 0-2; w es 0-4; x es 0-2; y es 0-2; z es 0-4; g es 6-14; siempre que:

al menos uno de m, n y r sea distinto de 0;

al menos uno de w e y sea distinto de 0;

la suma de m, n, p, r y t sea de 2 a 5; y

la suma de v, w, x, y y z sea de 2 a 5.

## Ácidos nucleicos diana, regiones diana y secuencias de nucleótidos

Las secuencias de nucleótidos que codifican el factor B del complemento (CFB) incluyen, sin limitación, las siguientes: n.º de acceso GENBANK NM\_001710.5 (incorporado en el presente documento como SEQ ID NO: 1), n.º de acceso GENBANK NT\_007592.15 truncado de los nucleótidos 31852000 a 31861000 (incorporado en el presente documento como SEQ ID NO: 2), n.º de acceso GENBANK NW\_001116486.1 truncados de los nucleótidos 536000 a 545000 (incorporado en el presente documento como SEQ ID NO: 3), n.º de acceso GENBANK XM\_001113553.2 (incorporado en el presente documento como SEQ ID NO: 4) o n.º de acceso GENBANK NM\_008198.2 (incorporado en el presente documento como SEQ ID NO: 5).

## Hibridación

En algunos modos de realización, la hibridación se produce entre un compuesto antisentido divulgado en el presente documento y un ácido nucleico de CFB. El mecanismo más común de hibridación implica enlaces de hidrógeno (por ejemplo, enlace de hidrógeno tipo Watson-Crick, Hoogsteen o Hoogsteen inverso) entre nucleobases complementarias de las moléculas de ácido nucleico.

Se puede producir hibridación en condiciones variables. Las condiciones rigurosas son dependientes de la secuencia y se determinan por la naturaleza y la composición de las moléculas de ácido nucleico que se van a hibridar.

- 5 Los procedimientos para determinar si una secuencia es específicamente hibridable a un ácido nucleico diana son bien conocidos en la técnica. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido proporcionados en el presente documento son específicamente hibridables con un ácido nucleico de CFB.

### Complementariedad

10 Un compuesto antisentido y un ácido nucleico diana son complementarios entre sí cuando un número suficiente de nucleobases del compuesto antisentido puede formar enlaces de hidrógeno con las correspondientes nucleobases del ácido nucleico diana, de modo que se produzca un efecto deseado (por ejemplo, inhibición antisentido de un ácido nucleico diana, tal como un ácido nucleico de CFB).

15 Las nucleobases no complementarias entre un compuesto antisentido y un ácido nucleico de CFB se pueden tolerar siempre que el compuesto antisentido siga pudiendo hibridarse específicamente a un ácido nucleico diana. Además, un compuesto antisentido se puede hibridar sobre uno o más segmentos de un ácido nucleico de CFB de modo que los segmentos intermedios o adyacentes no se impliquen en el acontecimiento de hibridación (por ejemplo, una estructura de bucle, una estructura de horquilla o emparejamiento erróneo).

20 En determinados modos de realización, los compuestos antisentido proporcionados en el presente documento, o una porción especificada de los mismos, son, o son al menos, un 70 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % complementarios a un ácido nucleico de CFB, una región diana, segmento diana o porción especificada de los mismos. El porcentaje de complementariedad de un compuesto antisentido con un ácido nucleico diana se puede determinar usando procedimientos habituales.

30 Por ejemplo, un compuesto antisentido en el que 18 de las 20 nucleobases del compuesto antisentido son complementarias a una región diana y, por lo tanto, se hibridarían específicamente, representarían un 90 por ciento de complementariedad. En este ejemplo, las nucleobases no complementarias restantes se pueden agrupar o intercalar con nucleobases complementarias y no necesitan ser contiguas entre sí o a nucleobases complementarias. Como tal, un compuesto antisentido que tiene una longitud de 18 nucleobases que tiene cuatro nucleobases no complementarias que se flanquean por dos regiones de complementariedad completa con el ácido nucleico diana tendría un 77,8 % de complementariedad global con el ácido nucleico diana. El porcentaje de complementariedad de un compuesto antisentido con una región de un ácido nucleico diana se puede determinar de forma rutinaria usando programas BLAST (herramientas de búsqueda de alineación local básica) y programas PowerBLAST conocidos en la técnica (Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1990, 215, 403 410; Zhang and Madden, *Genome Res.*, 1997, 7, 649 656). El porcentaje de homología, identidad de secuencia o complementariedad se puede determinar, por ejemplo, por el programa Gap (Wisconsin Sequence Analysis Package, versión 8 para Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.), usando la configuración predeterminada, que usa el algoritmo de Smith y Waterman (Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482 489).

45 En determinados modos de realización, los compuestos antisentido proporcionados en el presente documento, o porciones especificadas de los mismos, son totalmente complementarios (es decir, 100 % complementarios) a un ácido nucleico diana, o porción especificada del mismo. Por ejemplo, un compuesto antisentido puede ser totalmente complementario a un ácido nucleico de CFB, o una región diana, o un segmento diana o secuencia diana del mismo. Como se usa en el presente documento, "totalmente complementario" quiere decir que cada nucleobase de un compuesto antisentido puede formar emparejamientos de bases precisos con las correspondientes nucleobases de un ácido nucleico diana. Por ejemplo, un compuesto antisentido de 20 nucleobases es totalmente complementario a una secuencia diana que tiene una longitud de 400 nucleobases, siempre que exista una correspondiente porción de 20 nucleobases del ácido nucleico diana que sea totalmente complementaria al compuesto antisentido. Totalmente complementario también se puede usar en referencia a una porción especificada del primer y/o el segundo ácido nucleico. Por ejemplo, una porción de 20 nucleobases de un compuesto antisentido de 30 nucleobases puede ser "totalmente complementaria" a una secuencia diana que tiene una longitud de 400 nucleobases. La porción de 20 nucleobases del oligonucleótido de 30 nucleobases es totalmente complementaria a la secuencia diana si la secuencia diana tiene una correspondiente porción de 20 nucleobases en la que cada nucleobase es complementaria a la porción de 20 nucleobases del compuesto antisentido. Al mismo tiempo, el compuesto antisentido de 30 nucleobases completo puede o no ser totalmente complementario a la secuencia diana, dependiendo de si las 10 nucleobases restantes del compuesto antisentido también son complementarias a la secuencia diana.

60 La localización de una nucleobase no complementaria puede estar en el extremo 5' o en el extremo 3' del compuesto antisentido. De forma alternativa, la nucleobase o nucleobases no complementarias pueden estar en una posición interna del compuesto antisentido. Cuando están presentes dos o más nucleobases no complementarias, pueden ser contiguas (es decir, estar enlazadas) o no contiguas. En un modo de realización, una nucleobase no complementaria se localiza en el segmento de ala de un oligonucleótido antisentido gámpero.

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido que tienen, o tienen hasta, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 nucleobases de longitud comprenden no más de 4, no más de 3, no más de 2 o no más de 1 nucleobase(s) no complementaria(s) con respecto a un ácido nucleico diana, tal como un ácido nucleico de CFB, o una porción especificada del mismo.

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido que tienen, o tienen hasta, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleobases de longitud comprenden no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2, o no más de 1 nucleobase(s) no complementaria(s) en relación con un ácido nucleico diana, tal como un ácido nucleico de CFB, o una porción especificada del mismo.

Los compuestos antisentido en el presente documento también incluyen los que son complementarios a una porción de un ácido nucleico diana. Como se usa en el presente documento, "porción" se refiere a un número definido de nucleobases contiguas (es decir, enlazadas) dentro de una región o segmento de un ácido nucleico diana. Una "porción" también se puede referir a un número definido de nucleobases contiguas de un compuesto antisentido. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido son complementarios a al menos una porción de 8 nucleobases de un segmento diana. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido son complementarios a al menos una porción de 9 nucleobases de un segmento diana. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido son complementarios a al menos una porción de 10 nucleobases de un segmento diana. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido son complementarios a al menos una porción de 11 nucleobases de un segmento diana. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido son complementarios a al menos una porción de 12 nucleobases de un segmento diana. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido son complementarios a al menos una porción de 13 nucleobases de un segmento diana. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido son complementarios a al menos una porción de 14 nucleobases de un segmento diana. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido son complementarios a al menos una porción de 15 nucleobases de un segmento diana. También se contemplan compuestos antisentido que son complementarios a al menos una porción de 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más nucleobases de un segmento diana, o un intervalo definido por dos cualesquiera de estos valores.

## Identidad

Los compuestos antisentido en el presente documento también pueden tener un porcentaje de identidad definido con una secuencia de nucleótidos particular, SEQ ID NO, o compuesto representado por un número Isis específico, o una porción del mismo. Como se usa en el presente documento, un compuesto antisentido es idéntico a la secuencia divulgada en el presente documento si tiene la misma capacidad de emparejamiento de nucleobases. Por ejemplo, un ARN que contiene uracilo en lugar de timidina en una secuencia de ADN divulgada se consideraría idéntico a la secuencia de ADN puesto que tanto uracilo como timidina se emparejan con adenina. También se contemplan versiones acortadas y alargadas de los compuestos antisentido descritos en el presente documento, así como compuestos que tienen bases no idénticas en relación con los compuestos antisentido en el presente documento. Las bases no idénticas pueden estar adyacentes entre sí o dispersarse por todo el compuesto antisentido. El porcentaje de identidad de un compuesto antisentido se calcula de acuerdo con el número de bases que tienen un apareamiento de bases idéntico en relación con la secuencia con la que se compara.

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido, o porciones de los mismos, son al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idénticos a uno o más de los compuestos antisentido o SEQ ID NO, o una porción de los mismos, divulgados en el presente documento.

En determinados modos de realización, una porción del compuesto antisentido se compara con una porción de igual longitud del ácido nucleico diana. En determinados modos de realización, una porción de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleobases se compara con una porción de igual longitud del ácido nucleico diana.

En determinados modos de realización, una porción del oligonucleótido antisentido se compara con una porción de igual longitud del ácido nucleico diana. En determinados modos de realización, una porción de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleobases se compara con una porción de igual longitud del ácido nucleico diana.

## Modificaciones

Un nucleósido es una combinación base-glúcido. La porción de nucleobases (también conocida como base) del nucleósido es normalmente un resto de bases heterocíclico. Los nucleótidos son nucleósidos que incluyen además un grupo fosfato enlazado covalentemente a la porción glucídica del nucleósido. Para aquellos nucleósidos que incluyen un glúcido pentofuranosílico, el grupo fosfato se puede enlazar al resto hidroxilo 2', 3' o 5' del glúcido. Los oligonucleótidos se forman a través del enlace covalente de nucleósidos adyacentes entre sí, para formar un oligonucleótido polimérico lineal. Dentro de la estructura oligonucleotídica, comúnmente se hace referencia a los

grupos fosfato como formadores de los enlaces internucleosídicos del oligonucleótido.

Las modificaciones para los compuestos antisentido engloban sustituciones o cambios en enlaces internucleosídicos, restos glucídicos o nucleobases. Los compuestos antisentido modificados a menudo son preferentes a las formas naturales debido a propiedades deseables tales como, por ejemplo, potenciación en la captación celular, potenciación en la afinidad por ácido nucleico diana, incremento en la estabilidad en presencia de nucleasas o incremento en la actividad inhibidora.

También se pueden emplear nucleósidos modificados químicamente para incrementar la afinidad de unión de un oligonucleótido antisentido acortado o truncado por su ácido nucleico diana. En consecuencia, a menudo se pueden obtener resultados comparables con compuestos antisentido más cortos que tienen dichos nucleósidos modificados químicamente.

### Enlaces internucleosídicos modificados

El enlace internucleosídico natural de ARN y el ADN es un enlace fosfodiéster 3' a 5'. Los compuestos antisentido que tienen uno o más enlaces internucleosídicos modificados, es decir, no naturales, a menudo se seleccionan frente a los compuestos antisentido que tienen enlaces internucleosídicos naturales debido a propiedades deseables tales como, por ejemplo, potenciación en la captación celular, potenciación en la afinidad por ácidos nucleicos diana e incremento en la estabilidad en presencia de nucleasas.

Los oligonucleótidos que tienen enlaces internucleosídicos modificados incluyen enlaces internucleosídicos que conservan un átomo de fósforo así como enlaces internucleosídicos que no tienen un átomo de fósforo. Los fósforos representativos que contienen enlaces internucleosídicos incluyen, pero no se limitan a, fosfodiésteres, fosfotriésteres, metilfosfonatos, fosforamido y fosforotioatos. Los procedimientos de preparación de enlaces que contienen fósforo y que no contienen fósforo son bien conocidos.

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico de CFB comprenden uno o más enlaces internucleosídicos modificados. En determinados modos de realización, los enlaces internucleosídicos modificados son enlaces fosforotioato. En determinados modos de realización, cada enlace internucleosídico de un compuesto antisentido es un enlace internucleosídico fosforotioato.

En determinados modos de realización, los oligonucleótidos comprenden enlaces internucleosídicos modificados dispuestos a lo largo del oligonucleótido o región del mismo en un patrón definido o motivo de enlace internucleosídico modificado. En determinados modos de realización, los enlaces internucleosídicos se disponen en un motivo con huecos. En dichos modos de realización, los enlaces internucleosídicos en cada una de las dos regiones de ala son diferentes de los enlaces internucleosídicos en la región de hueco. En determinados modos de realización, los enlaces internucleosídicos en las alas son fosfodiéster y los enlaces internucleosídicos en el hueco son fosforotioato. El motivo nucleosídico se selecciona independientemente, por lo que dichos oligonucleótidos que tienen un motivo de enlace internucleosídico con huecos pueden tener o no un motivo nucleosídico con huecos y, si tienen un motivo nucleosídico con huecos, las longitudes de ala y hueco pueden ser o no iguales.

En determinados modos de realización, los oligonucleótidos comprenden una región que tiene un motivo de enlace internucleosídico alterno. En determinados modos de realización, los oligonucleótidos de la presente invención comprenden una región de enlaces internucleosídicos uniformemente modificados. En determinados modos de realización, el oligonucleótido comprende una región que se enlaza uniformemente por enlaces internucleosídicos fosforotioato. En determinados modos de realización, el oligonucleótido se enlaza uniformemente por fosforotioato. En determinados modos de realización, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido se selecciona de fosfodiéster y fosforotioato. En determinados modos de realización, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido se selecciona de fosfodiéster y fosforotioato y al menos un enlace internucleosídico es fosforotioato.

En determinados modos de realización, el oligonucleótido comprende al menos 6 enlaces internucleosídicos fosforotioato. En determinados modos de realización, el oligonucleótido comprende al menos 8 enlaces internucleosídicos fosforotioato. En determinados modos de realización, el oligonucleótido comprende al menos 10 enlaces internucleosídicos fosforotioato. En determinados modos de realización, el oligonucleótido comprende al menos un bloque de al menos 6 enlaces internucleosídicos fosforotioato consecutivos. En determinados modos de realización, el oligonucleótido comprende al menos un bloque de al menos 8 enlaces internucleosídicos fosforotioato consecutivos. En determinados modos de realización, el oligonucleótido comprende al menos un bloque de al menos 10 enlaces internucleosídicos fosforotioato consecutivos. En determinados modos de realización, el oligonucleótido comprende al menos un bloque de al menos 12 enlaces internucleosídicos fosforotioato consecutivos. En determinados modos de realización, al menos uno de dicho bloque se localiza en el extremo 3' del oligonucleótido. En determinados modos de realización, al menos uno de dicho bloque se localiza dentro de 3 nucleósidos del extremo 3' del oligonucleótido.

En determinados modos de realización, los oligonucleótidos comprenden uno o más enlaces metilfosfonato. En determinados modos de realización, los oligonucleótidos que tienen un motivo nucleosídico gápmero comprenden un motivo de enlace que comprende todos los enlaces fosforotioato excepto uno o dos enlaces metilfosfonato. En determinados modos de realización, un enlace metilfosfonato está en el hueco central de un oligonucleótido que

tiene un motivo nucleosídico gápmero.

En determinados modos de realización, es deseable disponer el número de enlaces internucleosídicos fosforotioato y enlaces internucleosídicos fosfodiéster para mantener la resistencia a la nucleasa. En determinados modos de realización, es deseable disponer el número y posición de enlaces internucleosídicos fosforotioato y el número y posición de enlaces internucleosídicos fosfodiéster para mantener la resistencia a la nucleasa. En determinados modos de realización, el número de enlaces internucleosídicos fosforotioato puede disminuir y el número de enlaces internucleosídicos fosfodiéster se puede incrementar. En determinados modos de realización, el número de enlaces internucleosídicos fosforotioato puede disminuir y el número de enlaces internucleosídicos fosfodiéster se puede incrementar mientras todavía se mantiene la resistencia a la nucleasa. En determinados modos de realización, es deseable disminuir el número de enlaces internucleosídicos fosforotioato mientras se mantiene la resistencia a la nucleasa. En determinados modos de realización, es deseable incrementar el número de enlaces internucleosídicos fosfodiéster mientras se mantiene la resistencia a la nucleasa.

### Restos glucídicos modificados

Los compuestos antisentido pueden contener opcionalmente uno o más nucleósidos en los que se ha modificado el grupo glucídico. Dichos nucleósidos modificados con glucídico pueden impartir una potenciación en la estabilidad por nucleasas, un incremento en la afinidad de unión o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a los compuestos antisentido. En determinados modos de realización, los nucleósidos comprenden restos de anillo ribofuranosa modificados químicamente. Los ejemplos de anillos ribofuranosa modificados químicamente incluyen sin limitación, la adición de grupos sustituyentes (incluyendo grupos sustituyentes 5' y 2', puentes de átomos de anillo no germinales para formar ácidos nucleicos bicíclicos (BNA), reemplazo sustitución del átomo de oxígeno de anillo ribosilo con S, N(R) o C(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>) (R, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno independientemente H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> o un grupo protector) y combinaciones de los mismos. Los ejemplos de glucídicos modificados químicamente incluyen nucleósido 2'-F-5'-metilo-sustituido (véase la solicitud internacional PCT WO 2008/101157 publicada el 21/8/08 para otros nucleósidos 5',2'-bis-sustituidos divulgados) o el reemplazo del átomo de oxígeno del anillo ribosilo con S con sustitución adicional en la posición 2' (véase la solicitud de patente de EE. UU. publicada US2005-0130923, publicada el 16 de junio de 2005) o, de forma alternativa, la sustitución en 5' de un BNA (véase la solicitud internacional PCT WO 2007/134181 publicada el 22/11/07 en la que LNA está sustituido con, por ejemplo, un grupo 5'-metilo o 5'-vinilo).

Los ejemplos de nucleósidos que tienen restos glucídicos modificados incluyen sin limitación nucleósidos que comprenden los grupos sustituyentes 5'-vinilo, 5'-metilo (R o S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH<sub>3</sub>, 2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F y 2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>. El sustituyente en la posición 2' también se puede seleccionar de alilo, amino, ácido, tio, O-alilo, alquilo O-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, OCF<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>F, O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>), O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>) y O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>1</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>), donde cada R<sub>1</sub>, R<sub>m</sub> y R<sub>n</sub> es, independientemente, H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> sustituido o no sustituido.

Como se usa en el presente documento, "nucleósidos bicíclicos" se refiere a nucleósidos modificados que comprenden un resto glucídico bicíclico. Los ejemplos de nucleósidos bicíclicos incluyen sin limitación, nucleósidos que comprenden un puente entre los átomos de anillo ribosilo 4' y 2'. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido proporcionados en el presente documento incluyen uno o más nucleósidos bicíclicos que comprenden un puente 4' a 2'. Los ejemplos de dichos nucleósidos bicíclicos con puente 4' a 2' incluyen pero no se limitan a una de las fórmulas: 4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2' (LNA); 4'-(CH<sub>2</sub>)-S-2'; 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2' (ENA); 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2' (también denominada etilo restringido o cEt) y 4'-CH(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-O-2' (y análogos de la misma, véase la patente de EE. UU. 7.399.845, presentada el 15 de julio de 2008); 4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)-O-2' (y análogos de la misma, véase la solicitud internacional WO 2009/006478, publicada el 8 de enero de 2009); 4'-CH<sub>2</sub>-N(OCH<sub>3</sub>)-2' (y análogos de la misma, véase la solicitud internacional publicada WO/2008/150729, publicada el 11 de diciembre de 2008); 4'-CH<sub>2</sub>-O-N(CH<sub>3</sub>)-2' (véase la solicitud de patente de EE. UU. publicada US2004-0171570, publicada el 2 de septiembre de 2004); 4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2', en la que R es H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, o un grupo protector (véase la patente de EE. UU. 7.427.672, presentada el 23 de septiembre de 2008); 4'-CH<sub>2</sub>-C(H)(CH<sub>3</sub>)-2' (véase Zhou *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); y 4'-CH<sub>2</sub>-C(=CH<sub>2</sub>)-2' (y análogos de la misma, véase la solicitud internacional publicada WO 2008/154401, publicada el 8 de diciembre de 2008).

También se pueden encontrar otros informes relacionados con nucleósidos bicíclicos en la literatura publicada (véase por ejemplo: Singh *et al.*, *Chem. Commun.*, 1998, 4, 455-456; Koshkin *et al.*, *Tetrahedron*, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2000, 97, 5633-5638; Kumar *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, 8, 2219-2222; Singh *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1998, 63, 10035-10039; Srivastava *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi *et al.*, *Curr. Opin. Invest. Drugs*, 2001, 2, 558-561; Braasch *et al.*, *Chem. Biol.*, 2001, 8, 1-7; y Orum *et al.*, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 2001, 3, 239-243; patentes de EE. UU. n.ºs 6.268.490; 6.525.191; 6.670.461; 6.770.748; 6.794.499; 7.034.133; 7.053.207; 7.399.845; 7.547.684; 8.530.640; y 7.696.345;



publicaciones de patente de EE. UU. n.ºs US2008-0039618; US2009-0012281; patentes de EE. UU. n.ºs 61/026.995 y 61/097.787; solicitudes internacionales PCT publicadas; WO 2009/067647; WO 2011/017521; WO 2010/036698 WO 1999/014226; WO 2004/106356; WO 2005/021570; WO 2007/134181; WO 2008/150729; WO 2008/154401; y WO 2009/006478. Se puede preparar cada uno de los nucleósidos bicíclicos anteriores para que

5 tengan una o más configuraciones glucídicas estereoquímicas incluyendo, por ejemplo,  $\alpha$ -L-ribofuranosa y  $\beta$ -D-ribofuranosa (véase la solicitud internacional PCT PCT/DK98/00393, publicada el 25 de marzo de 1999 como WO 99/14226).

10 En determinados modos de realización, los restos glucídicos bicíclicos de nucleósidos de BNA incluyen, pero no se limitan a, compuestos que tienen al menos un puente entre la posición 4' y la 2' del resto glucídico de pentofuranosilo en el que dichos puentes comprenden independientemente 1 o de 2 a 4 grupos enlazados seleccionados independientemente de  $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ ,  $-C(R_a)=C(R_b)-$ ,  $-C(R_a)=N-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-C(=NR_a)-$ ,  $-C(=S)-$ ,  $-O-$ ,  $-Si(R_a)_2-$ ,  $-S(=O)_x-$  y  $-N(R_a)-$ ;

15 en los que:

x es 0, 1 o 2;

n es 1, 2, 3 o 4;

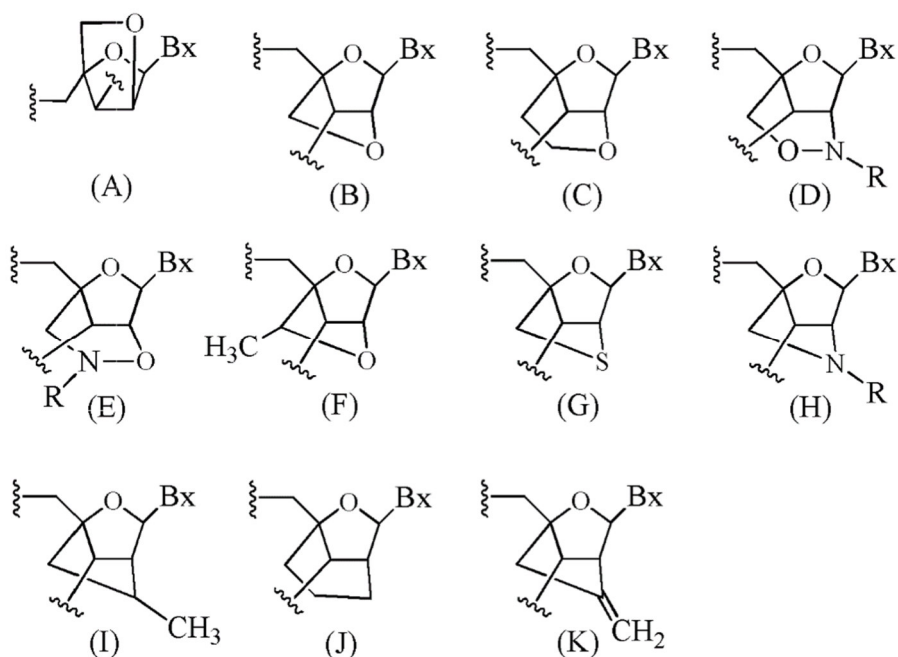
20 cada  $R_a$  y  $R_b$  es, independientemente, H, un grupo protector, hidroxilo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> sustituido, radical heterociclo, radical heterociclo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical alicíclico C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>, radical alicíclico C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> sustituido, halógeno, OJ<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, SJ<sub>1</sub>, N<sub>3</sub>, COOJ<sub>1</sub>, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, CN, sulfonilo (S(=O)<sub>2</sub>-J<sub>1</sub>), o sulfoxilo (S(=O)-J<sub>1</sub>); y

25 cada J<sub>1</sub> y J<sub>2</sub> es, independientemente, H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>, arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> sustituido, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, aminoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, aminoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido o un grupo protector.

30 En determinados modos de realización, el puente de un resto glucídico bicíclico es  $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ ,  $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$ ,  $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$  o  $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$ . En determinados modos de realización, el puente es 4'-CH<sub>2</sub>-2', 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-2', 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2', 4'-CH<sub>2</sub>-O-2', 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2', 4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2' y 4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2' en el que cada R es, independientemente, H, un grupo protector o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>.

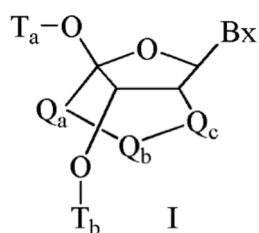
35 En determinados modos de realización, los nucleósidos bicíclicos se definen además por su configuración isomérica. Por ejemplo, un nucleósido que comprende un puente 4'-2' metilen-oxi, puede estar en la configuración  $\alpha$ -L o en la configuración  $\beta$ -D. Previamente, los BNA de  $\alpha$ -L-metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') se han incorporado en oligonucleótidos antisentido que mostraron actividad antisentido (Frieden *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 2003, 21, 6365-6372).

40 En determinados modos de realización, los nucleósidos bicíclicos incluyen, pero no se limitan a, (A)  $\alpha$ -L-metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA, (B)  $\beta$ -D-metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA, (C) etilenoxi (4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2') BNA, (D) aminooxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2') BNA, (E) oxiamino (4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2') BNA y (F) metil(metilenoxi) (4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2') BNA, (G) metileno (4'-CH<sub>2</sub>-S-2') BNA, (H) metilen-amino (4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-2') BNA, (I) metil-carbocíclico (4'-CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-2') BNA, (J) propilen-carbocíclico (4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2') BNA y (K) vinil-BNA como se representa a continuación:



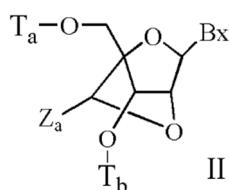
en los que Bx es el resto de base y R es independientemente H, un grupo protector, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>.

- 5 En determinados modos de realización, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la fórmula I:



en la que:

- 10 Bx es un resto de base heterocíclico;
- Q<sub>a</sub>-Q<sub>b</sub>-Q<sub>c</sub>- es -CH<sub>2</sub>-N(R<sub>c</sub>)-CH<sub>2</sub>-, -C(=O)-N(R<sub>c</sub>)-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-O-N(R<sub>c</sub>)-, -CH<sub>2</sub>-N(R<sub>c</sub>)-O- o -N(R<sub>c</sub>)-O-CH<sub>2</sub>;
- 15 R<sub>c</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> o un grupo protector amino; y
- T<sub>a</sub> y T<sub>b</sub> son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte.
- 20 En determinados modos de realización, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la fórmula II:



en la que:

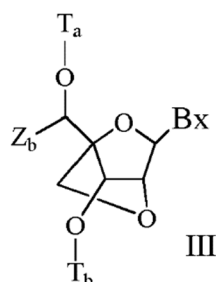
- 25 Bx es un resto de base heterocíclico;

T<sub>a</sub> y T<sub>b</sub> son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

Z<sub>a</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, acilo, acilo sustituido, amida sustituida, tiol o tio sustituido.

En un modo de realización, cada uno de los grupos sustituidos está, independientemente, mono o polisustituido con grupos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, oxo, hidroxilo, OJ<sub>c</sub>, NJ<sub>c</sub>J<sub>d</sub>, SJ<sub>c</sub>, N<sub>3</sub>, OC(=X)J<sub>c</sub> y NJ<sub>e</sub>C(=X)NJ<sub>c</sub>J<sub>d</sub>, en los que cada J<sub>c</sub>, J<sub>d</sub> y J<sub>e</sub> es, independientemente, H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido y X es O o NJ<sub>c</sub>.

En determinados modos de realización, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la fórmula III:



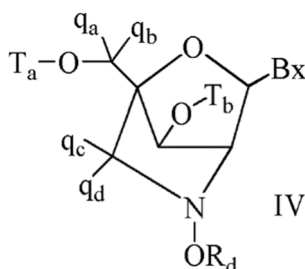
en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T<sub>a</sub> y T<sub>b</sub> son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

Z<sub>b</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido o acilo sustituido (C(=O)-).

En determinados modos de realización, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la fórmula IV:



en la que:

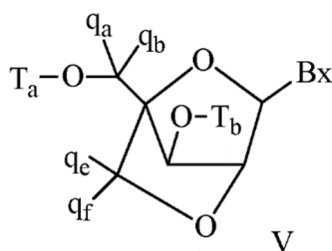
Bx es un resto de base heterocíclica;

T<sub>a</sub> y T<sub>b</sub> son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

R<sub>d</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> o alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido;

cada q<sub>a</sub>, q<sub>b</sub>, q<sub>c</sub> y q<sub>d</sub> es, independientemente, H, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> o alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alcoxilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, acilo, acilo sustituido, aminoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o aminoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido;

En determinados modos de realización, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula V:



en la que:

5 Bx es un resto de base heterocíclico;

Ta y Tb son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

10 qa, qb, qe y qf son cada uno, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, OJ<sub>j</sub>, SJ<sub>j</sub>, SOJ<sub>j</sub>, SO<sub>2</sub>J<sub>j</sub>, NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>, N<sub>3</sub>, CN, C(=O)OJ<sub>j</sub>, C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>, C(=O)J<sub>j</sub>, O-C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>, N(H)C(=NH)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>, N(H)C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub> o N(H)C(=S)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>;

15 o qe y qf juntos son =C(q<sub>g</sub>)(q<sub>h</sub>);

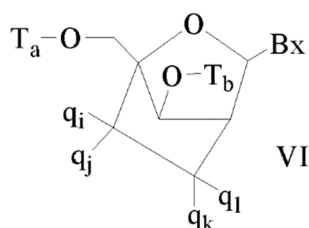
q<sub>g</sub> y q<sub>h</sub> son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido.

20 Se ha descrito la síntesis y preparación de los monómeros metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA adenina, citosina, guanina, 5-metil-citosina, timina y uracilo, junto con sus propiedades de oligomerización y reconocimiento de ácidos nucleicos (Koshkin *et al.*, *Tetrahedron*, 1998, 54, 3607-3630). Los BNA y la preparación de los mismos también se describen en los documentos WO 98/39352 y WO 99/14226.

25 También se han preparado análogos de metilenoxi (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA y 2'-tio-BNA (Kumar *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, 8, 2219-2222). También se ha descrito la preparación de análogos nucleosídicos bloqueados que comprenden dúplex de oligodesoxirribonucleótidos como sustratos para las ácido nucleico polimerasas (Wengel *et al.*, WO 99/14226). Además, la síntesis de 2'-amino-BNA, un análogo oligonucleotídico de alta afinidad conformacionalmente restringido novedoso se ha descrito en la técnica (Singh *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1998, 63, 10035-10039). Además, se han preparado 2'-amino- y 2'-metilamino-BNA y se ha informado previamente de la

30 estabilidad térmica de sus dúplex con hebras de ARN y ADN complementarias.

En determinados modos de realización, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la fórmula VI:



35 en la que:

Bx es un resto de base heterocíclico;

40 Ta y Tb son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, un resto de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

45 cada qi, qj, qk y q<sub>l</sub> es, independientemente, H, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, alcoxilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alcoxilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido, OJ<sub>j</sub>, SJ<sub>j</sub>, SOJ<sub>j</sub>, SO<sub>2</sub>J<sub>j</sub>, NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>, N<sub>3</sub>, CN, C(=O)OJ<sub>j</sub>, C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>, C(=O)J<sub>j</sub>, O-C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>, N(H)C(=NH)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>, N(H)C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub> o N(H)C(=S)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>;

qi y qj o qi y qk juntos son =C(q<sub>g</sub>)(q<sub>h</sub>), en la que q<sub>g</sub> y q<sub>h</sub> son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-

C<sub>12</sub> o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> sustituido.

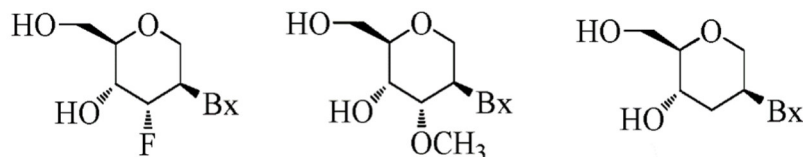
Se han descrito un nucleósido bicíclico carbocíclico que tiene un puente 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2' y el puente análogo de alqueno 4'-CH=CH-CH<sub>2</sub>-2' (Freier *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4429-4443 y Albaek *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2006, 71, 7731-7740). También se han descrito la síntesis y preparación de nucleósidos bicíclicos carbocíclicos junto con su oligomerización y estudios bioquímicos (Srivastava *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(26), 8362-8379).

Como se usa en el presente documento, "nucleósido bicíclico 4'-2'" o "nucleósido bicíclico 4' a 2'" se refiere a un nucleósido bicíclico que comprende un anillo furanosa que comprende un puente que conecta dos átomos de carbono del anillo furanosa conecta el átomo de carbono 2' y el átomo de carbono 4' del anillo glucídico.

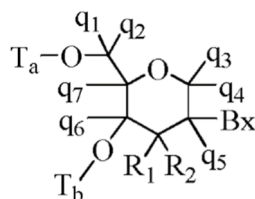
Como se usa en el presente documento, "nucleósidos monocíclicos" se refiere a nucleósidos que comprenden restos glucídicos modificados que no son restos glucídicos bicíclicos. En determinados modos de realización, el resto glucídico, o el análogo de resto glucídico, de un nucleósido se puede modificar o sustituir en cualquier posición.

Como se usa en el presente documento, "glúcido 2'-modificado" quiere decir un glúcido furanosilo modificado en la posición 2'. En determinados modos de realización, dichas modificaciones incluyen sustituyentes seleccionados de: un haluro, incluyendo, pero sin limitarse a, alcoxi sustituido y no sustituido, tioalquilo sustituido y no sustituido, aminoalquilo sustituido y no sustituido, alquilo sustituido y no sustituido, alilo sustituido y no sustituido y alquinilo sustituido y no sustituido. En determinados modos de realización, las modificaciones en 2' se seleccionan de sustituyentes incluyendo, pero sin limitarse a: O[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O]<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>F, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ONH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>C(=O)N(H)CH<sub>3</sub>, and O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ON[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>]<sub>2</sub>, donde n y m son de 1 a aproximadamente 10. Otros grupos sustituyentes 2' también se pueden seleccionar de: alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alquilo sustituido, alqueno, alquinilo, alcarilo, aralquilo, O-alcarilo u O-aralquilo, SH, SCH<sub>3</sub>, OCN, Cl, Br, CN, F, CF<sub>3</sub>, OCF<sub>3</sub>, SOCH<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, ONO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, heterocicloalquilo, heterocicloalcarilo, aminoalquilamino, polialquilamino, sililo sustituido, un grupo de escisión de ARN, un grupo informador, un intercalador, un grupo para mejorar las propiedades farmacocinéticas, o un grupo para mejorar las propiedades farmacocinéticas de un compuesto antisentido, y otros sustituyentes que tienen propiedades similares. En determinados modos de realización, los nucleósidos modificados comprenden una cadena lateral 2'-MOE (Baker *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 11944-12000). Se ha descrito que dicha sustitución de 2'-MOE tiene una mejora en la afinidad de unión en comparación con nucleósidos no modificados y con otros nucleósidos modificados, tales como 2'-O-metilo, O-propilo y O-aminopropilo. También se ha demostrado que los oligonucleótidos que tienen el sustituyente 2'-MOE son inhibidores antisentido de la expresión génica con rasgos característicos prometedores para su uso *in vivo* (Martin, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78, 486-504; Altmann *et al.*, *Chimia*, 1996, 50, 168-176; Altmann *et al.*, *Biochem. Soc. Trans.*, 1996, 24, 630-637; y Altmann *et al.*, *Nucleosides Nucleotides*, 1997, 16, 917-926).

Como se usa en el presente documento, un "nucleósido de tetrahidropirano modificado" o "nucleósido de THP modificado" quiere decir un nucleósido que tiene un "glúcido" de tetrahidropirano de seis miembros sustituido en por el residuo pentofuranosilo en nucleósidos normales (un sustituto glucídico). Los nucleósidos de THP modificados incluyen, pero no se limitan a, lo que se denomina en la técnica ácido nucleico de hexitol (HNA), ácido nucleico de anitol (ANA), ácido nucleico de manitol (MNA) (véase Leumann, *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, 10, 841-854) o fluoro-HNA (F-HNA) que tiene un sistema de anillo tetrahidropirano como se ilustra a continuación:



En determinados modos de realización, se seleccionan sustitutos glucídicos que tienen la fórmula VII:



VII

en la que independientemente para cada uno de dichos al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de

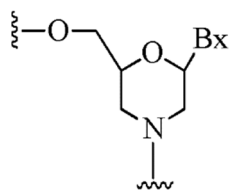
fórmula VII:

Bx es un resto de base heterocíclico;

- 5 T<sub>a</sub> y T<sub>b</sub> son cada uno, independientemente, un grupo de enlace internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto antisentido o uno de T<sub>a</sub> and T<sub>b</sub> es un grupo de enlace internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto antisentido y el otro de T<sub>a</sub> and T<sub>b</sub> es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado enlazado o un grupo terminal 5' o 3';
- 10 q<sub>1</sub>, q<sub>2</sub>, q<sub>3</sub>, q<sub>4</sub>, q<sub>5</sub>, q<sub>6</sub>, y q<sub>7</sub> son cada uno independientemente, H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> o alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido; y cada uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se selecciona de hidrógeno, hidroxilo, halógeno, alcoxi sustituido o no sustituido, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, SJ<sub>1</sub>, N<sub>3</sub>, OC(=X)J<sub>1</sub>, OC(=X)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, NJ<sub>3</sub>C(=X)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> y CN, en la que X es O, S o NJ<sub>1</sub> y cada J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> y J<sub>3</sub> es, independientemente, H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.
- 15 En determinados modos de realización, se proporcionan los nucleósidos de THP modificados de fórmula VII en la que q<sub>1</sub>, q<sub>2</sub>, q<sub>3</sub>, q<sub>4</sub>, q<sub>5</sub>, q<sub>6</sub>, y q<sub>7</sub> son cada uno H. En determinados modos de realización, al menos uno de q<sub>1</sub>, q<sub>2</sub>, q<sub>3</sub>, q<sub>4</sub>, q<sub>5</sub>, q<sub>6</sub>, y q<sub>7</sub> es distinto de H. En determinados modos de realización, al menos uno de q<sub>1</sub>, q<sub>2</sub>, q<sub>3</sub>, q<sub>4</sub>, q<sub>5</sub>, q<sub>6</sub>, y q<sub>7</sub> es metilo. En determinados modos de realización, se proporcionan nucleósidos de THP de fórmula VII en la que uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es fluoro. En determinados modos de realización, R<sub>1</sub> es fluoro y R<sub>2</sub> es H; R<sub>1</sub> es metoxi y R<sub>2</sub> es H, y R<sub>1</sub> es metoxietoxi y R<sub>2</sub> es H.
- 20

En determinados modos de realización, los sustitutos glucídicos comprenden anillos que tienen más de 5 átomos y más de un heteroátomo. Por ejemplo, se ha informado de nucleósidos que comprenden restos glucídicos morfolino y su uso en compuestos oligoméricos (véanse por ejemplo: Braasch *et al.*, *Biochemistry*, 2002, 41, 4503-4510; las patentes de EE. UU. 5.698.685; 5.166.315; 5.185.444; y 5.034.506). Como se usa aquí, el término "morfolino" quiere decir un sustituto glucídico que tiene la siguiente fórmula:

25



- 30 En determinados modos de realización, las morfolinas se pueden modificar, por ejemplo, añadiendo o alterando diversos grupos sustituyentes de la estructura de morfolina anterior. Dichos sustitutos glucídicos se denominan en el presente documento "morfolinos modificados".

También se proporcionan combinaciones de modificaciones sin limitación, tales como nucleósidos 2'-F-5'-metilo--sustituidos (véase la solicitud internacional PCT WO 2008/101157 publicada el 21/8/08 para otros nucleósidos 5', 2'-bis-sustituidos divulgados) y el reemplazo del átomo de oxígeno del anillo ribosilo con S y sustitución adicional en la posición 2' (véase la solicitud de patente de EE.UU. US2005-0130923, publicada el 16 de junio de 2005) o de forma alternativa la sustitución en 5' de un ácido nucleico bicíclico (véase la solicitud internacional PCT WO 2007/134181, publicada el 22/11/07 en la que un 4'-CH<sub>2</sub>-O-2'-nucleósido bicíclico está sustituido además en la posición 5' con un grupo 5'-metilo o 5'-vinilo). También se ha descrito la síntesis y preparación de nucleósidos bicíclicos carbocíclicos junto con su oligomerización y estudios bioquímicos (véase por ejemplo, Srivastava *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129(26), 8362-8379).

35

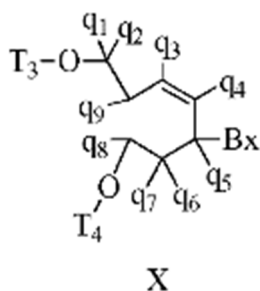
40

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido comprenden uno o más nucleósidos de ciclohexenilo modificados, que es un nucleósido que tiene un ciclohexenilo de seis miembros en lugar del residuo pentofuranosilo en nucleósidos naturales. Los nucleósidos de ciclohexenilo modificados incluyen, pero no se limitan a, los descritos en la técnica (véanse, por ejemplo, la solicitud PCT publicada, de propiedad común, WO 2010/036696 publicada el 10 de abril de 2010, Robeyns *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130(6), 1979-1984; Horváth *et al.*, *Tetrahedron Letters*, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(30), 9340-9348; Gu *et al.*, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2005, 24(5-7), 993-998; Nauwelaerts *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(8), 2452-2463; Robeyns *et al.*, *Acta Crystallographica, Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, 2005, F61(6), 585-586; Gu *et al.*, *Tetrahedron*, 2004, 60(9), 2111-2123; Gu *et al.*, *Oligonucleotides*, 2003, 13(6), 479-489; Wang *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2003, 68, 4499-4505; Verbeure *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 2001, 29(24), 4941-4947; Wang *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2001, 66, 8478-82; Wang *et al.*, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2001, 20(4-7), 785-788; Wang *et al.*, *J. Am. Chem.*, 2000, 122, 8595-8602; solicitud PCT publicada, documento WO 06/047842; y solicitud PCT publicada WO 01/049687). Determinados nucleósidos de ciclohexenilo modificados tienen la fórmula X.

45

50

55



en la que independientemente para cada uno de dichos al menos un análogo nucleosídico de ciclohexenilo de fórmula X:

Bx es un resto de base heterocíclico;

T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> son cada uno, independientemente, un grupo de enlace internucleosídico que une el análogo nucleosídico de ciclohexenilo a un compuesto antisentido o uno de T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> es un grupo de enlace internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano a un compuesto antisentido y el otro de T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado enlazado o un grupo terminal 5' o 3'; y

q<sub>1</sub>, q<sub>2</sub>, q<sub>3</sub>, q<sub>4</sub>, q<sub>5</sub>, q<sub>6</sub>, q<sub>7</sub>, q<sub>8</sub> y q<sub>9</sub> son cada uno, independientemente, H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> sustituido u otro grupo sustituyente glucídico.

Como se usa en el presente documento, "2'-modificado" o "2'-sustituido" se refiere a un nucleósido que comprende un glúcido que comprende un sustituyente en la posición 2' distinto de H u OH. Los nucleósidos 2'-modificados incluyen, pero no se limitan a, nucleósidos bicíclicos en los que el puente que conecta dos átomos de carbono del anillo glucídico conecta el carbono 2' y otro carbono del anillo glucídico; y nucleósidos con sustituyentes 2' distintos del puente, tales como alilo, amino, ácido, tio, O-alilo, O-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -OCF<sub>3</sub>, O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>, 2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>) o O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>), donde cada R<sub>m</sub> y R<sub>n</sub> es, independientemente, H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> sustituido o no sustituido. Los nucleósidos 2'-modificados pueden comprender además otras modificaciones, por ejemplo, en otras posiciones del glúcido y/o en la nucleobase.

Como se usa en el presente documento, "2'-F" se refiere a un nucleósido que comprende un glúcido que comprende un grupo fluoro en la posición 2' del anillo glucídico.

Como se usa en el presente documento, "2'-OMe" o "2'-OCH<sub>3</sub>" o "2'-O-metilo" cada uno se refiere a un nucleósido que comprende un glúcido que comprende un grupo -OCH<sub>3</sub> en la posición 2' del anillo glucídico.

Como se usa en el presente documento, "2'-OMe" o "2'-OCH<sub>3</sub>" o "2'-O-metilo" cada uno se refiere a un nucleósido que comprende un glúcido que comprende un grupo -OCH<sub>3</sub> en la posición 2' del anillo glucídico.

Como se usa en el presente documento, "MOE" o "2'-MOE" o "2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>" o "2'-O-metoxietilo" cada uno se refiere a un nucleósido que comprende un glúcido que comprende un grupo -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> en la posición 2' del anillo glucídico.

Como se usa en el presente documento, "oligonucleótido" se refiere a un compuesto que comprende una pluralidad de nucleósidos enlazados. En determinados modos de realización, se modifica uno o más de la pluralidad de nucleósidos. En determinados modos de realización, un oligonucleótido comprende uno o más ribonucleósidos (ARN) y/o desoxirribonucleósidos (ADN).

También son conocidos en la técnica muchos otros sistemas de anillo sustitutos glucídicos biciclo y triciclo que se pueden usar para modificar nucleósidos para su incorporación en compuestos antisentido (véase, por ejemplo, el artículo de revisión: Leumann, *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, 10, 841-854). Dichos sistemas de anillo pueden experimentar diversas sustituciones adicionales para potenciar su actividad.

Los procedimientos para la preparación de glúcidos modificados son bien conocidos para los expertos en la técnica. Algunas patentes de EE. UU. representativas que enseñan la preparación de dichos glúcidos modificados incluyen sin limitación, US: 4.981.957; 5.118.800; 5.319.080; 5.359.044; 5.393.878; 5.446.137; 5.466.786; 5.514.785; 5.519.134; 5.567.811; 5.576.427; 5.591.722; 5.597.909; 5.610.300; 5.627.053; 5.639.873; 5.646.265; 5.670.633; 5.700.920; 5.792.847 y 6.600.032 y la solicitud internacional PCT/US2005/019219, presentada el 2 de junio de 2005 y publicada como WO 2005/121371 el 22 de diciembre de 2005.

En los nucleótidos que tienen fracciones glucídicas modificadas, las fracciones de nucleobase (naturales, modificadas o una combinación de las mismas) se mantienen para la hibridación con una diana de ácido nucleico

apropiada.

En la invención reivindicada, los compuestos antisentido comprenden uno o más nucleósidos que tienen restos glucídicos modificados. En determinados modos de realización, el resto glucídico modificado es 2'-MOE. En determinados modos de realización, los nucleósidos 2'-MOE modificados se disponen en un motivo gápmero. En determinados modos de realización, el resto glucídico modificado es un nucleósido bicíclico que tiene un grupo puente (4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'). En determinados modos de realización, los nucleósidos (4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2') modificados se disponen a lo largo de las alas de un motivo gápmero.

## **Nucleobases modificadas**

Las modificaciones o sustituciones de nucleobases (o bases) son estructuralmente distinguibles de, pero funcionalmente intercambiables con, nucleobases naturales o sintéticas no modificadas. Las nucleobases tanto naturales como modificadas pueden participar en el enlace de hidrógeno. Dichas modificaciones de nucleobases pueden impartir estabilidad a la nucleasa, afinidad de unión o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a los compuestos antisentido. Las nucleobases modificadas incluyen nucleobases sintéticas y naturales tales como, por ejemplo, 5-metilcitosina (5-me-C). Determinadas sustituciones de nucleobases, incluyendo sustituciones de 5-metilcitosina, son en particular útiles para incrementar la afinidad de unión de un compuesto antisentido por un ácido nucleico diana. Por ejemplo, se ha demostrado que las sustituciones de 5-metilcitosina incrementan la estabilidad del dúplex de ácido nucleico en 0,6-1,2 °C (Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. and Lebleu, B., eds., *Antisense Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278).

Las nucleobases modificadas adicionales incluyen 5-hidroximetil-citosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metil- y otros derivados alquílicos de adenina y guanina, 2-propil- y otros derivados alquílicos de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo y citosina, 5-propinil- (-C≡C-CH<sub>3</sub>) uracilo y citosina y otros derivados alquínicos de bases pirimidínicas, 6-azo-uracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-tiol, 8-tioalquil-, 8-hidroxil- y otras adeninas y guaninas 8-sustituidas, 5-halo en particular 5-bromo, 5-trifluorometil- y otros uracilos y citosinas 5-sustituidos, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 2-F-adenina, 2-aminoadenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-desazaguanina y 7-desazaadenina y 3-desazaguanina y 3-desazaadenina.

Los restos de base heterocíclicos también pueden incluir aquellos en los que la base purínica o pirimidínica se reemplaza con otros heterociclos, por ejemplo, 7-desaza-adenina, 7-desazaguanosina, 2-aminopiridina y 2-piridona. Las nucleobases que son en particular útiles para incrementar la afinidad de unión de compuestos antisentido incluyen pirimidinas 5-sustituidas, 6-azapirimidinas y purinas N-2, N-6 y O-6 sustituidas, incluyendo 2-aminopropiladenina, 5-propiniluracilo y 5-propinilcitosina.

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico de CFB comprenden una o más nucleobases modificadas. En determinados modos de realización, los oligonucleótidos antisentido acortados o con huecos ensanchados dirigidos a un ácido nucleico de CFB comprenden una o más nucleobases modificadas. En determinados modos de realización, la nucleobase modificada es 5-metilcitosina. En determinados modos de realización, cada citosina es una 5-metilcitosina.

## **Compuestos antisentido conjugados**

En determinados modos de realización, la presente divulgación proporciona compuestos antisentido conjugados. En determinados modos de realización, la presente divulgación proporciona compuestos antisentido conjugados que comprenden un oligonucleótido antisentido complementario a un transcrito de ácido nucleico. En determinados modos de realización, la presente divulgación proporciona procedimientos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto antisentido conjugado que comprende un oligonucleótido antisentido complementario a un transcrito de ácido nucleico. En determinados modos de realización, la presente divulgación proporciona procedimientos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto antisentido conjugado que comprende un oligonucleótido antisentido y reducir la cantidad o actividad de un transcrito de ácido nucleico en una célula.

El receptor de asialoglucoproteína (ASGP-R) se ha descrito previamente. Véase, por ejemplo, Park *et al.*, PNAS vol. 102, No. 47, pp 17125-17129 (2005). Dichos receptores se expresan en las células hepáticas, en particular hepatocitos. Además, se ha demostrado que los compuestos que comprenden agrupaciones de tres ligandos N-acetilgalactosamina (GalNAc) se pueden unir al ASGP-R, dando como resultado la captación del compuesto en la célula. Véase, por ejemplo, Khorev *et al.*, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16,9, pp 5216-5231 (mayo 2008). En consecuencia, los conjugados que comprenden dichas agrupaciones de GalNAc se han usado para facilitar la captación de determinados compuestos en células hepáticas, específicamente hepatocitos. Por ejemplo, se ha demostrado que determinados conjugados que contienen GalNAc incrementan la actividad de compuestos de ARNip dúplex en células hepáticas *in vivo*. En dichos casos, el conjugado que contiene GalNAc típicamente se une a la hebra de sentido del dúplex de ARNip. Puesto que la hebra de sentido se desecha antes de que la hebra de antisentido se hibride finalmente con el ácido nucleico diana, existe poca preocupación de que el conjugado



interfiera con la actividad. Típicamente, el conjugado se une al extremo 3' de la hebra de sentido del ARNip. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. 8.106.022. Determinados grupos conjugados descritos en el presente documento son más activos y/o más fáciles de sintetizar que los grupos conjugados descritos previamente.

En determinados modos de realización de la presente invención, los conjugados se unen a compuestos antisentido monocatenarios, incluyendo, pero sin limitarse a compuestos antisentido basados en RNasa H y compuestos antisentido que alteran el corte y empalme de un ácido nucleico diana pre-ARNm. En dichos modos de realización, el conjugado debe permanecer unido al compuesto antisentido lo suficiente para proporcionar un beneficio (mejora en la captación en las células), pero a continuación se debe escindir o bien no interferir de otro modo con las etapas posteriores necesarias para la actividad, tales como hibridación a un ácido nucleico diana e interacción con RNasa H o enzimas asociadas con el empalme o la modulación del empalme. Este equilibrio de propiedades es más importante en el establecimiento de compuestos antisentido monocatenarios que en compuestos de ARNip, donde el conjugado se puede unir simplemente a la hebra de sentido. En el presente documento se divulgan compuestos antisentido monocatenarios conjugados que tienen una mejora en la potencia en células hepáticas *in vivo* en comparación con el mismo compuesto antisentido que carece del conjugado. Dado el equilibrio requerido de propiedades para estos compuestos, dicha mejora en la potencia es sorprendente.

En determinados modos de realización, los grupos conjugados en el presente documento comprenden un resto escindible. Como se indica, sin querer limitarse por el mecanismo, es lógico que el conjugado deba permanecer en el compuesto lo suficiente para proporcionar una potenciación en la captación, pero después de eso, es deseable que una porción o, idealmente, todo el conjugado se escinda, liberando el compuesto original (por ejemplo, compuesto antisentido) en su forma más activa. En determinados modos de realización, el resto escindible es un nucleósido escindible. Dichos modos de realización aprovechan las nucleasas endógenas en la célula uniendo el resto del conjugado (la agrupación) al oligonucleótido antisentido a través de un nucleósido por medio de uno o más enlaces escindibles, tales como los de un enlace fosfodiéster. En determinados modos de realización, la agrupación se une al nucleósido escindible a través de un enlace fosfodiéster. En determinados modos de realización, el nucleósido escindible se une al oligonucleótido antisentido (compuesto antisentido) por un enlace fosfodiéster. En determinados modos de realización, el grupo conjugado puede comprender dos o tres nucleósidos escindibles. En dichos modos de realización, dichos nucleósidos escindibles se enlazan entre sí, al compuesto antisentido y/o a la agrupación por medio de enlaces escindibles (tales como los de un enlace fosfodiéster). Determinados conjugados en el presente documento no comprenden un nucleósido escindible y en su lugar comprenden un enlace escindible. Se muestra que esa escisión suficiente del conjugado del oligonucleótido se proporciona por al menos un enlace que es vulnerable a la escisión en la célula (un enlace escindible).

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido conjugados son profármacos. Dichos profármacos se administran a un animal y finalmente se metabolizan a una forma más activa. Por ejemplo, los compuestos antisentido conjugados se escinden para retirar todo o parte del conjugado dando como resultado la forma activa (o más activa) del compuesto antisentido que carece de todo o parte del conjugado.

En determinados modos de realización, los conjugados se unen al extremo 5' de un oligonucleótido. Determinados de dichos conjugados en 5' se escinden de forma más eficaz que los homólogos que tienen un grupo conjugado similar unido al extremo 3'. En determinados modos de realización, la mejora en la actividad se puede correlacionar con una mejora en la escisión. En determinados modos de realización, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado en el extremo 5' tienen mayor eficacia que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado en el extremo 3' (véanse, por ejemplo, los ejemplos 56, 81, 83 y 84). Además, la unión en 5' permite una síntesis oligonucleotídica más sencilla. Típicamente, los oligonucleótidos se sintetizan sobre un soporte sólido en la dirección 3' a 5'. Para preparar un oligonucleótido conjugado en 3', típicamente se une un nucleósido preconjugado en 3' al soporte sólido y a continuación se construye el oligonucleótido como de costumbre. Sin embargo, unir ese nucleósido conjugado al soporte sólido añade complicación a la síntesis. Además, usando ese enfoque, el conjugado está presente a continuación en toda la síntesis del oligonucleótido y se puede degradar durante las etapas posteriores o puede limitar los tipos de reacciones y reactivos que se pueden usar. Usando las estructuras y técnicas descritas en el presente documento para oligonucleótidos conjugados en 5', se puede sintetizar el oligonucleótido usando técnicas automatizadas estándar e introducir el conjugado con el nucleósido final (lo más hacia 5') o después de que el oligonucleótido se haya escindido del soporte sólido.

En vista de la técnica y la presente divulgación, un experto en la técnica puede preparar fácilmente cualquiera de los conjugados y oligonucleótidos conjugados en el presente documento. Además, la síntesis de determinados de dichos conjugados y oligonucleótidos conjugados divulgados en el presente documento es más fácil y/o requiere pocas etapas y por lo tanto, es menos costosa que la de los conjugados divulgados previamente, proporcionando ventajas en la fabricación. Por ejemplo, la síntesis de determinados grupos conjugados consiste en menos etapas sintéticas, lo que da como resultado un incremento en el rendimiento, en relación con los grupos conjugados descritos anteriormente. Los grupos conjugados tales como GalNAc3-10 en el ejemplo 46 y GalNAc3-7 en el ejemplo 48 son mucho más sencillas que los conjugados descritos previamente tales como los descritos en los documentos US 8.106.022 o US 7.262.177 que requieren el conjunto de más intermedios químicos. En consecuencia, estos y otros conjugados descritos en el presente documento tienen ventajas sobre los compuestos descritos previamente para su uso con cualquier oligonucleótido, incluyendo oligonucleótidos monocatenarios y

cualquier hebra de oligonucleótidos bicatenarios (por ejemplo, ARNip).

De forma similar, en el presente documento se divulgan grupos conjugados que tienen solo uno o dos ligandos de GalNAc. Como se muestra, dichos grupos conjugados mejoran la actividad de los compuestos antisentido. Dichos compuestos son mucho más fáciles de preparar que los conjugados que comprenden tres ligandos de GalNAc. Los grupos conjugados que comprenden uno o dos ligandos de GalNAc se pueden unir a cualquier compuesto antisentido, incluyendo oligonucleótidos monocatenarios y cualquier hebra de oligonucleótidos bicatenarios (por ejemplo, ARNip).

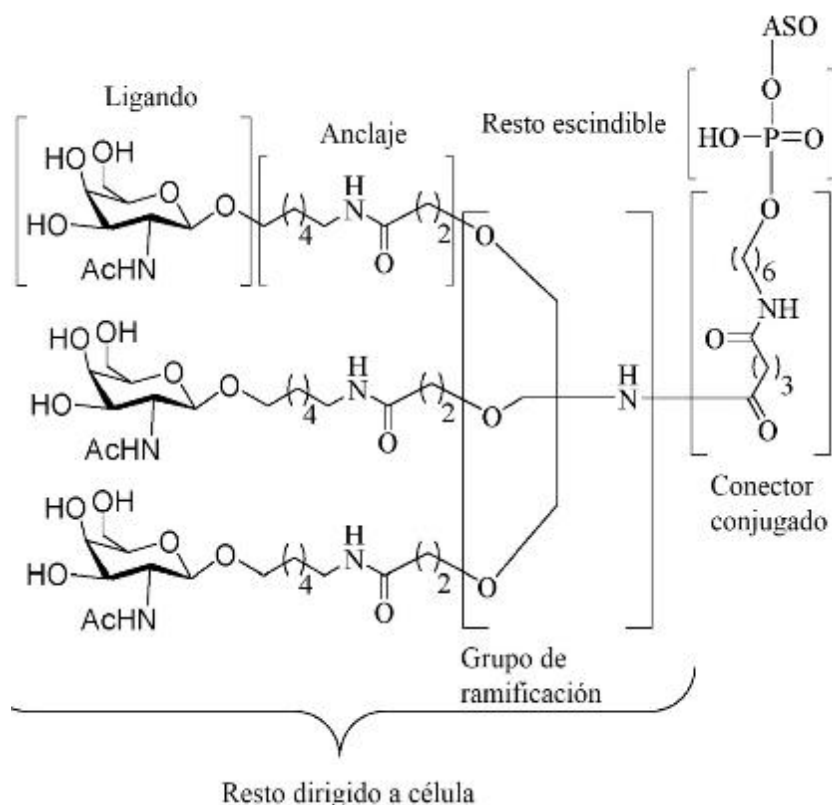
En determinados modos de realización, los conjugados en el presente documento no alteran sustancialmente determinadas medidas de tolerabilidad. Por ejemplo, se muestra en el presente documento que los compuestos antisentido conjugados no son más inmunógenos que los compuestos originales no conjugados. Puesto que se mejora la potencia, los modos de realización en los que la tolerabilidad sigue siendo la misma (o incluso si la tolerabilidad empeora solo ligeramente en comparación con las ganancias de potencia) tienen una mejora en las propiedades para el tratamiento.

En determinados modos de realización, la conjugación permite alterar compuestos antisentido de formas que tienen consecuencias menos atractivas en ausencia de conjugación. Por ejemplo, en determinados modos de realización, reemplazar uno o más enlaces fosforotioato de un compuesto antisentido totalmente fosforotioato con enlaces fosfodiéster da como resultado una mejora en algunas medidas de tolerabilidad. Por ejemplo, en determinados casos, dichos compuestos antisentido que tienen uno o más fosfodiésteres son menos inmunogénicos que el mismo compuesto en el que cada enlace es un fosforotioato. Sin embargo, en determinados casos, como se muestra en el ejemplo 26, ese mismo reemplazo de uno o más enlaces fosforotioato con enlaces fosfodiéster también da como resultado una reducción en la captación celular y/o pérdida de potencia. En determinados modos de realización, los compuestos antisentido conjugados descritos en el presente documento toleran dicho cambio en los enlaces con poca o ninguna pérdida de captación y potencia en comparación con el homólogo de fosforotioato completo conjugado. De hecho, en determinados modos de realización, por ejemplo, en los ejemplos 44, 57, 59 y 86, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado y al menos un enlace internucleosídico fosfodiéster en realidad presentan un incremento en la potencia *in vivo* incluso en relación con un homólogo de fosforotioato completo que también comprende el mismo conjugado. Además, puesto que la conjugación da como resultado incrementos sustanciales en la captación/potencia, una pequeña pérdida en esa ganancia sustancial puede ser aceptable para lograr una mejora en la tolerabilidad. En consecuencia, en determinados modos de realización, los compuestos antisentido conjugados comprenden al menos un enlace fosfodiéster.

En determinados modos de realización, la conjugación de compuestos antisentido en el presente documento da como resultado un incremento en el suministro, captación y actividad en los hepatocitos. Por tanto, se suministra más compuesto al tejido hepático. Sin embargo, en determinados modos de realización, ese incremento en el suministro por sí solo no explica todo el incremento en la actividad. En determinados modos de realización, entra más compuesto en los hepatocitos. En determinados modos de realización, incluso ese incremento en la captación de hepatocitos no explica todo el incremento en la actividad. En dichos modos de realización, se incrementa la captación productiva del compuesto conjugado. Por ejemplo, como se muestra en el ejemplo 102, determinados modos de realización de conjugados que contienen GalNAc incrementan el enriquecimiento de oligonucleótidos antisentido en hepatocitos frente a células no parenquimatosas. Este enriquecimiento es beneficioso para oligonucleótidos que se dirigen a genes que se expresan en hepatocitos.

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido conjugados en el presente documento dan como resultado una reducción en la exposición renal. Por ejemplo, como se muestra en el ejemplo 20, las concentraciones de oligonucleótidos antisentido que comprenden determinados modos de realización de conjugados que contienen GalNAc son menores en el riñón que las de oligonucleótidos antisentido que carecen de un conjugado que contiene GalNAc. Esto tiene varias implicaciones terapéuticas beneficiosas. Para indicaciones terapéuticas donde no se busca actividad en el riñón, la exposición al riñón presenta riesgo de toxicidad renal sin el correspondiente beneficio. Además, la alta concentración en el riñón típicamente da como resultado la pérdida del compuesto en la orina, dando como resultado una eliminación más rápida. En consecuencia, para dianas no renales, no se desea la acumulación renal.

En determinados modos de realización, se proporcionan compuestos antisentido conjugados que tienen la estructura:



### i Determinadas fracciones escindibles

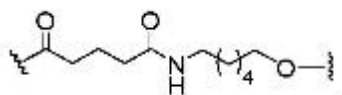
- 5 En determinados modos de realización, un resto escindible es un enlace escindible. En determinados modos de realización, un resto escindible comprende un enlace escindible. En determinados modos de realización, el grupo conjugado comprende un resto escindible. En determinados modos de realización, el resto escindible se une al oligonucleótido antisentido. En determinados modos de realización, el resto escindible se une directamente al resto dirigido a célula. En determinados modos de realización, el resto escindible se une al conector conjugado. En determinados modos de realización, el resto escindible comprende un fosfato o fosfodiéster. En determinados modos de realización, el resto escindible es un nucleósido escindible o un análogo nucleosídico. En determinados modos de realización, el nucleósido o análogo nucleosídico comprende una base heterocíclica opcionalmente protegida seleccionada de una purina, purina sustituida, pirimidina o pirimidina sustituida. En determinados modos de realización, el resto escindible es un nucleósido que comprende una base heterocíclica opcionalmente protegida seleccionada de uracilo, timina, citosina, 4-N-benzoilcitosina, 5-metilcitosina, 4-N-benzoil-5-metilcitosina, adenina, 6-N-benzoiladenina, guanina y 2-N-isobutirilguanina. En determinados modos de realización, el resto escindible es 2'-desoxinucleósido que se une a la posición 3' del oligonucleótido antisentido por un enlace fosfodiéster y se une al conector por un enlace fosfodiéster o fosforotioato. En determinados modos de realización, el resto escindible es 2'-desoxiadenosina que se une a la posición 3' del oligonucleótido antisentido por un enlace fosfodiéster y se une al conector por un enlace fosfodiéster o fosforotioato. En determinados modos de realización, el resto escindible es 2'-desoxiadenosina que se une a la posición 3' del oligonucleótido antisentido por un enlace fosfodiéster y se une al conector por un enlace fosfodiéster.
- 10 En determinados modos de realización, el resto escindible se une a la posición 3' del oligonucleótido antisentido. En determinados modos de realización, el resto escindible se une a la posición 5' del oligonucleótido antisentido. En determinados modos de realización, el resto escindible se une a una posición 2' del oligonucleótido antisentido. En determinados modos de realización, el resto escindible se une al oligonucleótido antisentido por un enlace fosfodiéster. En determinados modos de realización, el resto escindible se une al conector por un enlace fosfodiéster o bien fosforotioato. En determinados modos de realización, el resto escindible se une al conector por un enlace fosfodiéster. En determinados modos de realización, el grupo conjugado no incluye un resto escindible.
- 15 En determinados modos de realización, el resto escindible se escinde después de que el complejo se haya administrado a un animal solo después de internalizarse por una célula diana. Dentro de la célula, el resto escindible se escinde liberando de este modo el oligonucleótido antisentido activo. Sin pretender limitarse por la teoría, se cree que el resto escindible se escinde por una o más nucleasas dentro de la célula. En determinados modos de realización, la una o más nucleasas escinden el enlace fosfodiéster entre el resto escindible y el conector.
- 20 En determinados modos de realización, el resto escindible se escinde después de que el complejo se haya administrado a un animal solo después de internalizarse por una célula diana. Dentro de la célula, el resto escindible se escinde liberando de este modo el oligonucleótido antisentido activo. Sin pretender limitarse por la teoría, se cree que el resto escindible se escinde por una o más nucleasas dentro de la célula. En determinados modos de realización, la una o más nucleasas escinden el enlace fosfodiéster entre el resto escindible y el conector.
- 25 En determinados modos de realización, el resto escindible se escinde después de que el complejo se haya administrado a un animal solo después de internalizarse por una célula diana. Dentro de la célula, el resto escindible se escinde liberando de este modo el oligonucleótido antisentido activo. Sin pretender limitarse por la teoría, se cree que el resto escindible se escinde por una o más nucleasas dentro de la célula. En determinados modos de realización, la una o más nucleasas escinden el enlace fosfodiéster entre el resto escindible y el conector.
- 30 En determinados modos de realización, el resto escindible se escinde después de que el complejo se haya administrado a un animal solo después de internalizarse por una célula diana. Dentro de la célula, el resto escindible se escinde liberando de este modo el oligonucleótido antisentido activo. Sin pretender limitarse por la teoría, se cree que el resto escindible se escinde por una o más nucleasas dentro de la célula. En determinados modos de realización, la una o más nucleasas escinden el enlace fosfodiéster entre el resto escindible y el conector.
- 35 En determinados modos de realización, el resto escindible se escinde después de que el complejo se haya administrado a un animal solo después de internalizarse por una célula diana. Dentro de la célula, el resto escindible se escinde liberando de este modo el oligonucleótido antisentido activo. Sin pretender limitarse por la teoría, se cree que el resto escindible se escinde por una o más nucleasas dentro de la célula. En determinados modos de realización, la una o más nucleasas escinden el enlace fosfodiéster entre el resto escindible y el conector.

## ii Determinados conectores

El grupo conjugado del compuesto de la invención comprende un conector. En determinados de dichos modos de realización, el conector se une covalentemente al resto escindible. En determinados de dichos modos de realización, el conector se une covalentemente al oligonucleótido antisentido. El conector se une covalentemente a un resto dirigido a célula.

El conector es un grupo lineal que comprende grupos alquilo, amida y éter. En determinados modos de realización, el grupo lineal se une covalentemente al resto dirigido a célula y al resto escindible. En determinados modos de realización, el grupo lineal se une covalentemente al resto dirigido a célula y al oligonucleótido antisentido.

El conector conjugado del compuesto de la invención tiene la estructura:

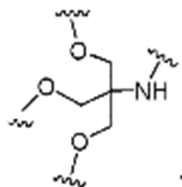


## iii Determinados restos dirigidos a células

El grupo conjugado del compuesto de la invención comprende restos dirigidos a células. Determinados de dichos restos dirigidos a células incrementan la captación celular de compuestos antisentido. Los restos dirigidos a células comprenden un grupo de ramificación, tres anclajes y tres ligandos.

### 1. Determinados grupos de ramificación

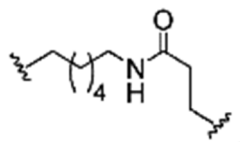
El grupo conjugado del compuesto de la invención comprende un resto dirigido que comprende un grupo de ramificación y tres ligandos anclados. El grupo de ramificación se une al conector conjugado. El grupo de ramificación se une covalentemente al conector y a cada uno de los ligandos anclados. El grupo de ramificación del compuesto de la invención tiene la estructura:



### 2. Determinados anclajes

El grupo conjugado del compuesto de la invención comprende tres anclajes unidos covalentemente al grupo de ramificación. El anclaje se une al grupo de ramificación a través de un grupo éter. El anclaje se une al ligando a través de un grupo éter.

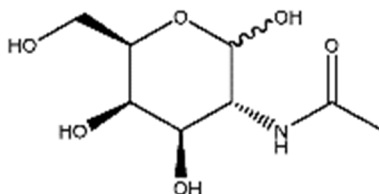
El anclaje del compuesto de la invención tiene la estructura:



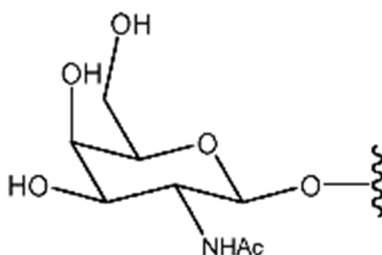
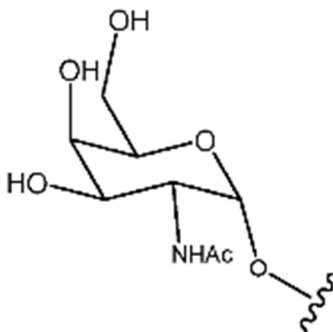
### 3. Determinados ligandos

Cada ligando del compuesto de la invención se une covalentemente a un anclaje. En determinados modos de realización, se selecciona cada ligando para que tener afinidad por al menos un tipo de receptor en una célula diana. En determinados modos de realización, se seleccionan ligandos que tienen una afinidad por al menos un tipo de receptor en la superficie de una célula hepática de mamífero. En determinados modos de realización, se seleccionan ligandos que tienen una afinidad por el receptor de asialoglucoproteína hepática (ASGP-R). En determinados modos de realización de la divulgación, cada ligando es un carbohidrato. Cada ligando del compuesto de la invención es N-acetilgalactosamina (GalNAc). En determinados modos de realización de la divulgación, el resto dirigido comprende 3 ligandos. El resto dirigido del compuesto de la invención comprende ligandos 3N-acetilgalactosamina.

En determinados modos de realización, "GalNac" o "Gal-NAc" se refiere a 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas, comúnmente denominada en la literatura N-acetilgalactosamina. En determinados modos de realización, "N-acetilgalactosamina" se refiere a 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas. "GalNac" o "Gal-NAc" del compuesto de la invención se refiere a 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas, que está en la forma  $\beta$ : 2-(acetilamino)-2-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosas. Además de la presente invención, en el presente documento se divulga la forma  $\alpha$ : 2-(acetilamino)-2-desoxi-D-galactopiranosas, que se representa por referencia a continuación.



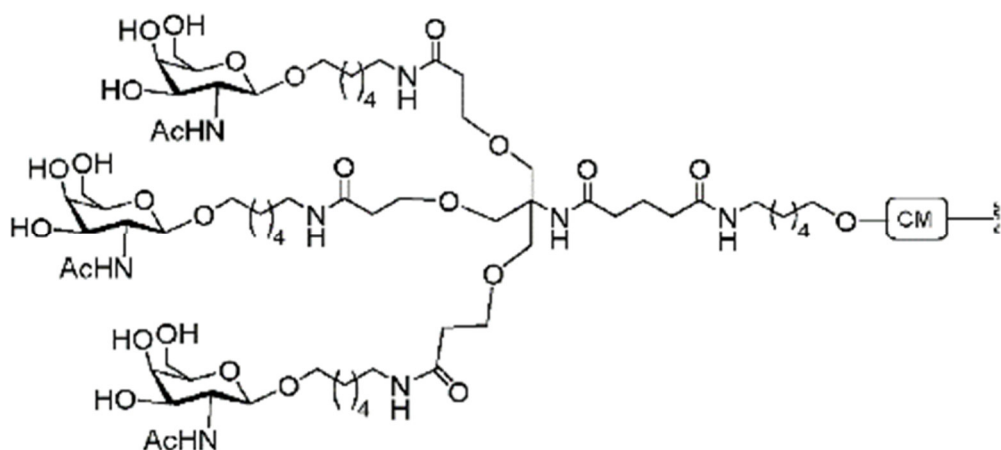
2-(acetilamino)-2-desoxy-D-galactopiranosas

2-(acetilamino)-2-desoxy- $\beta$ -D-galactopiranosas2-(acetilamino)-2-desoxy- $\alpha$ -D-galactopiranosas

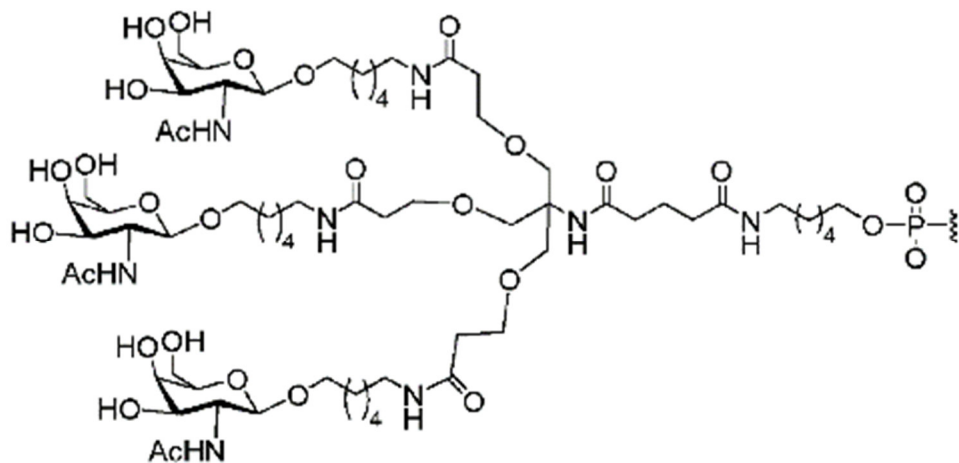
## i Determinados conjugados

En determinados modos de realización, los grupos conjugados comprenden los rasgos característicos estructurales anteriores que son consecuentes con las reivindicaciones adjuntas.

En determinados de dichos modos de realización, los grupos conjugados tienen la siguiente estructura:



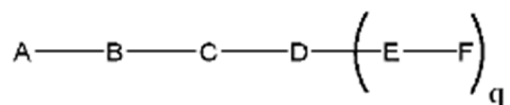
En determinados de dichos modos de realización, los grupos conjugados tienen la siguiente estructura:



5

### Determinados compuestos antisentido conjugados

En determinados modos de realización, los conjugados se unen a un nucleósido del oligonucleótido antisentido en la posición 2', 3' o 5' del nucleósido. El compuesto antisentido conjugado puede tener la siguiente estructura:



en la que

15

A es el oligonucleótido antisentido;

B es el resto escindible

20

C es el conector conjugado

D es el grupo de ramificación

cada E es un anclaje;

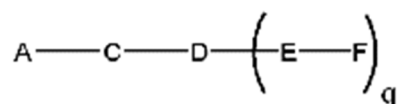
25

cada F es un ligando; y

$q$  es un número entero entre 1 y 5.

30

En determinados modos de realización de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la siguiente estructura:



en la que

5 A es el oligonucleótido antisentido;

C es el conector conjugado

D es el grupo de ramificación

10

cada E es un anclaje;

cada F es un ligando; y

15

q es un número entero entre 1 y 5.

En determinados de dichos modos de realización, el conector conjugado comprende al menos un enlace escindible.

En determinados de dichos modos de realización, el grupo de ramificación comprende al menos un enlace escindible.

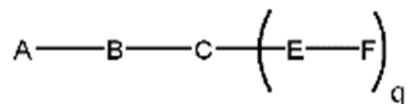
20

En determinados modos de realización, cada anclaje comprende al menos un enlace escindible.

En determinados modos de realización, los conjugados se unen a un nucleósido del oligonucleótido antisentido en la posición 2', 3' o 5' del nucleósido.

25

En determinados modos de realización de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la siguiente estructura:



30

en la que

A es el oligonucleótido antisentido;

35

B es el resto escindible

C es el conector conjugado

cada E es un anclaje;

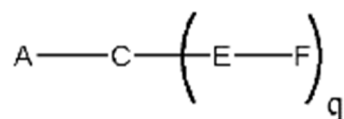
40

cada F es un ligando; y

q es un número entero entre 1 y 5.

45

En determinados modos de realización, los conjugados se unen a un nucleósido del oligonucleótido antisentido en la posición 2', 3' o 5' del nucleósido. En determinados modos de realización de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la siguiente estructura:



50

en la que

A es el oligonucleótido antisentido;

55

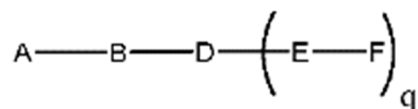
C es el conector conjugado

cada E es un anclaje;

cada F es un ligando; y

q es un número entero entre 1 y 5.

En determinados modos de realización de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la siguiente estructura:



en la que

A es el oligonucleótido antisentido;

B es el resto escindible

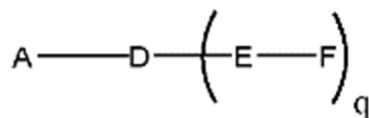
D es el grupo de ramificación

cada E es un anclaje;

cada F es un ligando; y

q es un número entero entre 1 y 5.

En determinados modos de realización de la divulgación, un compuesto antisentido conjugado tiene la siguiente estructura:



en la que

A es el oligonucleótido antisentido;

D es el grupo de ramificación

cada E es un anclaje;

cada F es un ligando; y

q es un número entero entre 1 y 5.

Las patentes de Estados Unidos, publicaciones de solicitudes de patentes de Estados Unidos y publicaciones de solicitudes de patentes internacionales representativas que enseñan la preparación de determinados de los conjugados, compuestos antisentido conjugados, anclajes, conectores, grupos de ramificación, ligandos, restos escindibles indicados anteriormente así como otras modificaciones incluyen sin limitación, US 5.994.517, US 6.300.319, US 6.660.720, US 6.906.182, US 7.262.177, US 7.491.805, US 8.106.022, US 7.723.509, US 2006/0148740, US 2011/0123520, WO 2013/033230 y WO 2012/037254.

Las publicaciones representativas que enseñan la preparación de determinados de los conjugados, compuestos antisentido conjugados, anclajes, conectores, grupos de ramificación, ligandos, restos escindibles indicados anteriormente así como otras modificaciones incluyen sin limitación, BIESSEN *et al.*, "The Cholesterol Derivative of a Triantennary Galactoside with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor: a Potent Cholesterol Lowering Agent" J. Med. Chem. (1995) 38:1846-1852, BIESSEN *et al.*, "Synthesis of Cluster Galactosides with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1995) 38:1538-1546, LEE *et al.*, "New and more efficient multivalent glyco-ligands for asialoglycoprotein receptor of mammalian hepatocytes" Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011) 19:2494-2500, RENSEN *et al.*, "Determination of the Upper Size Limit for Uptake and Processing of Ligands by the Asialoglycoprotein Receptor on Hepatocytes in Vitro and in Vivo" J. Biol. Chem.



(2001) 276(40):37577-37584, RENSEN *et al.*, "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" *J. Med. Chem.* (2004) 47:5798-5808, SLIEDREGT *et al.*, "Design and Synthesis of Novel Amphiphilic Dendritic Galactosides for Selective Targeting of Liposomes to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" *J. Med. Chem.* (1999) 42:609-618, y Valentijn *et al.*, "Solid-phase synthesis of lysine-based cluster galactosides with high affinity for the Asialoglycoprotein Receptor" *Tetrahedron*, 1997, 53(2), 759-770.

En determinados modos de realización, los compuestos antisentido conjugados comprenden un oligonucleótido basado en RNasa H (tal como un gápmero) o un oligonucleótido de modulación de empalme (tal como un oligonucleótido totalmente modificado) y cualquier grupo conjugado que comprende al menos uno, dos o tres grupos GalNAc. En determinados modos de realización un compuesto antisentido conjugado comprende cualquier grupo conjugado hallado en cualquiera de las siguientes referencias: Lee, *Carbohydr Res*, 1978, 67, 509-514; Connolly *et al.*, *J Biol Chem*, 1982, 257, 939-945; Pavia *et al.*, *Int J Pep Protein Res*, 1983, 22, 539-548; Lee *et al.*, *Biochem*, 1984, 23, 4255-4261; Lee *et al.*, *Glycoconjugate J*, 1987, 4, 317-328; Toyokuni *et al.*, *Tetrahedron Lett*, 1990, 31, 2673-2676; Biessen *et al.*, *J Med Chem*, 1995, 38, 1538-1546; Valentijn *et al.*, *Tetrahedron*, 1997, 53, 759-770; Kim *et al.*, *Tetrahedron Lett*, 1997, 38, 3487-3490; Lee *et al.*, *Bioconjug Chem*, 1997, 8, 762-765; Kato *et al.*, *Glycobiol*, 2001, 11, 821-829; Rensen *et al.*, *J Biol Chem*, 2001, 276, 37577-37584; Lee *et al.*, *Methods Enzymol*, 2003, 362, 38-43; Westerlind *et al.*, *Glycoconj J*, 2004, 21, 227-241; Lee *et al.*, *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(19), 5132-5135; Maierhofer *et al.*, *Bioorg Med Chem*, 2007, 15, 7661-7676; Khorev *et al.*, *Bioorg Med Chem*, 2008, 16, 5216-5231; Lee *et al.*, *Bioorg Med Chem*, 2011, 19, 2494-2500; Kornilova *et al.*, *Analyt Biochem*, 2012, 425, 43-46; Pujol *et al.*, *Angew Chemie Int Ed Engl*, 2012, 51, 7445-7448; Biessen *et al.*, *J Med Chem*, 1995, 38, 1846-1852; Slidregt *et al.*, *J Med Chem*, 1999, 42, 609-618; Rensen *et al.*, *J Med Chem*, 2004, 47, 5798-5808; Rensen *et al.*, *Arterioscler Thromb Vase Biol*, 2006, 26, 169-175; van Rossenberg *et al.*, *Gene Ther*, 2004, 11, 457-464; Sato *et al.*, *J Am Chem Soc*, 2004, 126, 14013-14022; Lee *et al.*, *J Org Chem*, 2012, 77, 7564-7571; Biessen *et al.*, *FASEB J*, 2000, 14, 1784-1792; Rajur *et al.*, *Bioconjug Chem*, 1997, 8, 935-940; Duff *et al.*, *Methods Enzymol*, 2000, 313, 297-321; Maier *et al.*, *Bioconjug Chem*, 2003, 14, 18-29; Jayaprakash *et al.*, *Org Lett*, 2010, 12, 5410-5413; Manoharan, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 2002, 12, 103-128; Merwin *et al.*, *Bioconjug Chem*, 1994, 5, 612-620; Tomiya *et al.*, *Bioorg Med Chem*, 2013, 21, 5275-5281; solicitudes internacionales WO1998/013381; WO2011/038356; WO1997/046098; WO2008/098788; WO2004/101619; WO2012/037254; WO2011/120053; WO2011/100131; WO2011/163121; WO2012/177947; WO2013/033230; WO2013/075035; WO2012/083185; WO2012/083046; WO2009/082607; WO2009/134487; WO2010/144740; WO2010/148013; WO1997/020563; WO2010/088537; WO2002/043771; WO2010/129709; WO2012/068187; WO2009/126933; WO2004/024757; WO2010/054406; WO2012/089352; WO2012/089602; WO2013/166121; WO2013/165816; patentes de EE. UU. 4.751.219; 8.552.163; 6.908.903; 7.262.177; 5.994.517; 6.300.319; 8.106.022; 7.491.805; 7.491.805; 7.582.744; 8.137.695; 6.383.812; 6.525.031; 6.660.720; 7.723.509; 8.541.548; 8.344.125; 8.313.772; 8.349.308; 8.450.467; 8.501.930; 8.158.601; 7.262.177; 6.906.182; 6.620.916; 8.435.491; 8.404.862; 7.851.615; publicaciones de solicitudes de patentes de EE. UU. publicadas US2011/0097264; US2011/0097265; US2013/0004427; US2005/0164235; US2006/0148740; US2008/0281044; US2010/0240730; US2003/0119724; US2006/0183886; US2008/0206869; US2011/0269814; US2009/0286973; US2011/0207799; US2012/0136042; US2012/0165393; US2008/0281041; US2009/0203135; US2012/0035115; US2012/0095075; US2012/0101148; US2012/0128760; US2012/0157509; US2012/0230938; US2013/0109817; US2013/0121954; US2013/0178512; US2013/0236968; US2011/0123520; US2003/0077829; US2008/0108801; y US2009/0203132.

#### Pruebas in vitro de oligonucleótidos antisentido

En el presente documento se describen procedimientos para el tratamiento de células con oligonucleótidos antisentido, que se pueden modificar apropiadamente para el tratamiento con otros compuestos antisentido.

Las células se pueden tratar con oligonucleótidos antisentido cuando las células alcanzan aproximadamente un 60-80 % de confluencia en cultivo.

Un reactivo usado comúnmente para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye el reactivo de transfección de lípidos catiónicos LIPOFECTIN (Invitrogen, Carlsbad, CA). Los oligonucleótidos antisentido se pueden mezclar con LIPOFECTIN en OPTI-MEM1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la concentración final deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de LIPOFECTIN que puede variar de 2 a 12 ug/ml por 100 nM de oligonucleótido antisentido.

Otro reactivo usado para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye LIPOFECTAMINA (Invitrogen, Carlsbad, CA). El oligonucleótido antisentido se mezcla con LIPOFECTAMINA en medio de suero reducido OPTI-MEM1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la concentración deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de LIPOFECTAMINA que puede variar de 2 a 12 ug/ml por 100 nM de oligonucleótido antisentido.

Otra técnica usada para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye la electroporación.

Aún otra técnica usada para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye la captación libre

de los oligonucleótidos por las células.

Las células se tratan con oligonucleótidos antisentido por procedimientos habituales. Se pueden obtener células 16-24 horas después del tratamiento con oligonucleótidos antisentido, momento en el que se miden los niveles de ARN o proteína de ácidos nucleicos diana por procedimientos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento. En general, cuando se realizan tratamientos en múltiples duplicados, los datos se presentan como el promedio de los tratamientos duplicados.

La concentración de oligonucleótido antisentido usada varía de una línea celular a otra. Los procedimientos para determinar la concentración de oligonucleótido antisentido óptima para una línea celular particular son bien conocidos en la técnica. Los oligonucleótidos antisentido se usan típicamente en concentraciones que varían de 1 nM a 300 nM cuando se transfectan con LIPOFECTAMINA. Los oligonucleótidos antisentido se usan en concentraciones mayores que varían de 625 a 20.000 nM cuando se transfectan usando electroporación.

#### **Aislamiento de ARN**

El análisis de ARN se puede realizar en ARN celular total o ARNm poli(A)+. Los procedimientos de aislamiento de ARN son bien conocidos en la técnica. El ARN se prepara usando procedimientos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, usando el reactivo TRIZOL (Invitrogen, Carlsbad, CA) de acuerdo con los protocolos recomendados por el fabricante.

#### **Determinadas indicaciones**

Determinados modos de realización de la divulgación se refieren a procedimientos para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto por la administración de un inhibidor específico de CFB, tal como un compuesto antisentido dirigido a CFB.

Los ejemplos de nefropatías asociadas con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento que se pueden tratar, prevenir y/o mejorar con los procedimientos divulgados en el presente documento incluyen glomerulopatía C3, síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), enfermedad por depósitos densos (EDD; también conocida como MPGN tipo II o C3Neph) y nefropatía CFHR5.

Otras nefropatías asociadas con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento que se pueden tratar, prevenir y/o mejorar con los procedimientos divulgados en el presente documento incluyen nefropatía por IgA; glomerulonefritis mesangiocapilar (membranoproliferativa)(GMC); trastornos autoinmunitarios que incluyen nefritis lúpica y lupus eritematoso sistémico (LES); glomerulonefritis inducida por infección (también conocida como glomerulonefritis posinfecciosa); y lesión por isquemia-reperusión renal, por ejemplo, lesión por isquemia-reperusión renal posterior a trasplante.

Los ejemplos de trastornos no renales asociados con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento tratables y/o prevenibles con los procedimientos divulgados en el presente documento incluyen enfermedades oculares tales como degeneración macular, por ejemplo, degeneración macular senil (DMS), que incluye la DMS húmeda y la DMS seca, tales como atrofia geográfica; neuromielitis óptica; enfermedad de la córnea, tal como inflamación de la córnea; uveítis autoinmunitaria; y retinopatía diabética. Se ha informado de que el sistema del complemento está implicado en enfermedades oculares. Jha P, *et al.*, *Mol Immunol* (2007) 44(16): 3901-3908. Los ejemplos adicionales de trastornos no renales asociados con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento tratables y/o prevenibles con los procedimientos divulgados en el presente documento incluyen vasculitis asociada a ANCA, síndrome antifosfolipídico (también conocido como síndrome de anticuerpos antifosfolipídicos (APS)), asma, artritis reumatoide, miastenia grave y esclerosis múltiple.

Determinados modos de realización de la divulgación se refieren a procedimientos para tratar, prevenir o mejorar una nefropatía asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto por la administración de un inhibidor específico de CFB, tal como un compuesto antisentido dirigido a CFB. En determinados aspectos, la nefropatía es nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (EDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5 o síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), o cualquier combinación de los mismos.

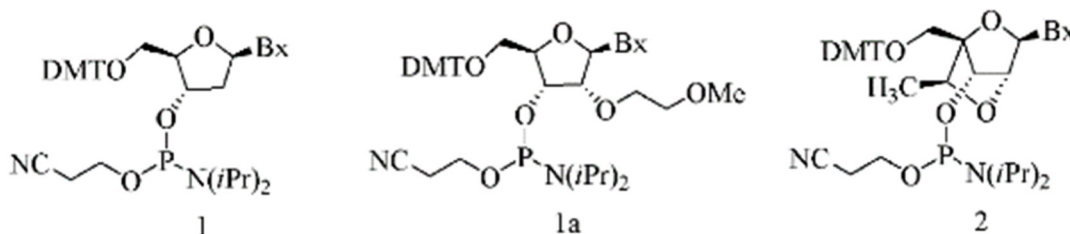
Determinados modos de realización de la divulgación se refieren a procedimientos para tratar, prevenir o mejorar la degeneración macular, tal como degeneración macular senil (DMS), en un sujeto por la administración de un inhibidor específico de CFB, tal como un compuesto antisentido dirigido a CFB. En determinados aspectos, la DMS es DMS húmeda o DMS seca. En determinados aspectos, la DMS seca puede ser atrofia geográfica. Los estudios han demostrado la asociación de la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento y DMS. Los componentes del complemento son constituyentes comunes de las drusas oculares, el material extracelular que se acumula en la mácula de los pacientes con DMS. Además, se ha informado de que las variantes CFH y CFB representan casi un 75 % de casos de DMS en el norte de Europa y Norteamérica. También se ha descubierto que un polimorfismo de CFB específico confiere protección contra DMS. Patel, N. *et al.*, *Eye* (2008) 22(6):768-76.

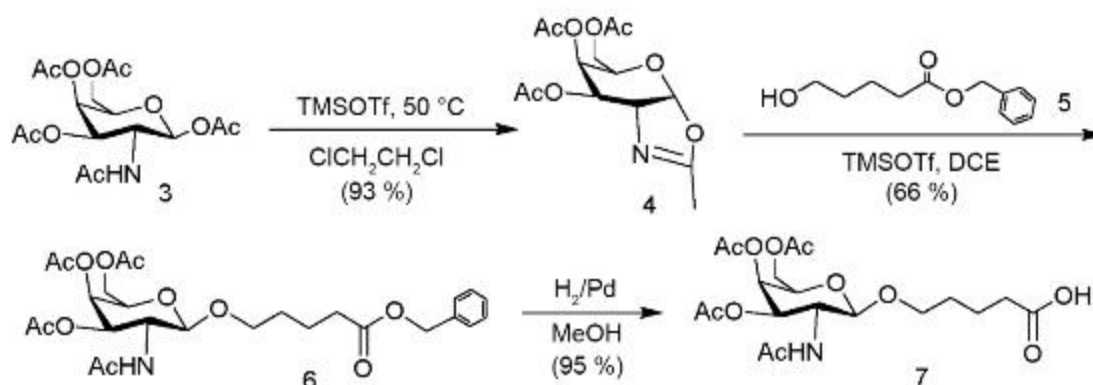
Adicionalmente, los ratones homocigóticos deficientes en CFB tienen una actividad de la vía del complemento menor, presentan lesiones oculares más pequeñas y neovascularización coroidea (NVC) después de fotocoagulación por láser. Rohrer, B. *et al.*, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* (2009) 50(7):3056-64. Además, el tratamiento con ARNip de CFB protege a los ratones de la NVC inducida por láser. Bora, NS *et al.*, *J Immunol.* (2006) 177(3):1872-8. Los estudios también han demostrado que el riñón y el ojo comparten vías de desarrollo y rasgos característicos estructurales, incluyendo composición del protómero de colágeno IV de la membrana basal y vascularización. Savige *et al.*, *J Am Soc Nephrol.* (2011) 22(8):1403-15. Existen pruebas de que la vía del complemento está implicada en enfermedades renales y oculares. Por ejemplo, la carencia de proteína reguladora del complemento hereditaria provoca predisposición al síndrome hemolítico urémico atípico y DMS. Richards A *et al.*, *Adv Immunol.* (2007) 96:141-77. Adicionalmente, la nefropatía crónica se ha asociado con DMS. Nitsch, D. *et al.*, *Ophthalmic Epidemiol.* (2009) 16(3):181-6; Choi, J. *et al.*, *Ophthalmic Epidemiol.* (2011) 18(6):259-63. La enfermedad por depósitos densos (EDD), una nefropatía asociada con la vía alternativa del complemento regulada incorrectamente, se caracteriza por síndrome nefrítico agudo y drusas oculares. Cruz y Smith, *GeneReviews* (2007) Jul 20. Además, los ratones que albergan la delección genética de un componente de la vía alternativa del complemento tienen fenotipos de enfermedades oculares y renales coexistentes. Se ha informado de que los ratones homocigóticos deficientes en CFH desarrollan EDD y presentan anomalías retinianas y disfunción visual. Pickering *et al.*, *Nat Genet.* (2002) 31(4):424-8. Los modelos de ratón de nefropatías asociadas con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento también se aceptan como modelos de DMS. Pennesi ME *et al.*, *Mol Aspects Med* (2012) 33:487-509. Los ratones deficientes en CFH, por ejemplo, son un modelo aceptado para nefropatías, tales como EDD y DMS. Además, se ha informado de que la DMS se asocia con la fuente sistémica de factores del complemento, que se acumulan localmente en el ojo para impulsar la activación del complemento en la vía alternativa. Loyet *et al.*, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* (2012) 53(10):6628-37.

#### EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran determinados modos de realización de la presente divulgación y no son limitantes. Además, cuando se proporcionan modos de realización específicos, los autores de la invención han contemplado la aplicación genérica de esos modos de realización específicos. Por ejemplo, la divulgación de un oligonucleótido que tiene un motivo particular proporciona un soporte razonable para oligonucleótidos adicionales que tienen el mismo motivo o similar. Y, por ejemplo, cuando una modificación de alta afinidad particular aparece en una posición particular, otras modificaciones de alta afinidad en la misma posición se consideran adecuadas, a menos que se indique de otro modo.

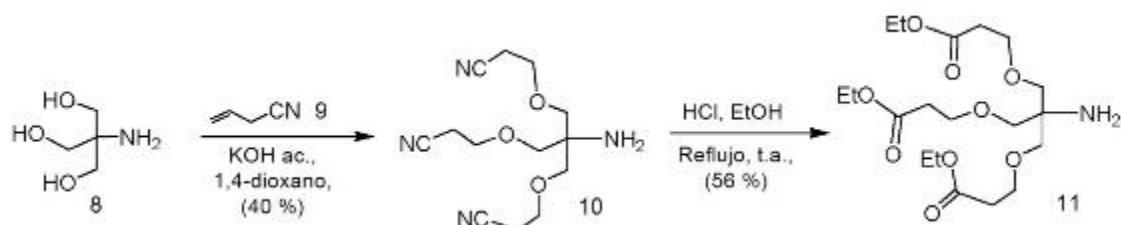
#### Ejemplo 1: procedimiento general para la preparación de fosforamiditas, compuestos 1, 1a y 2





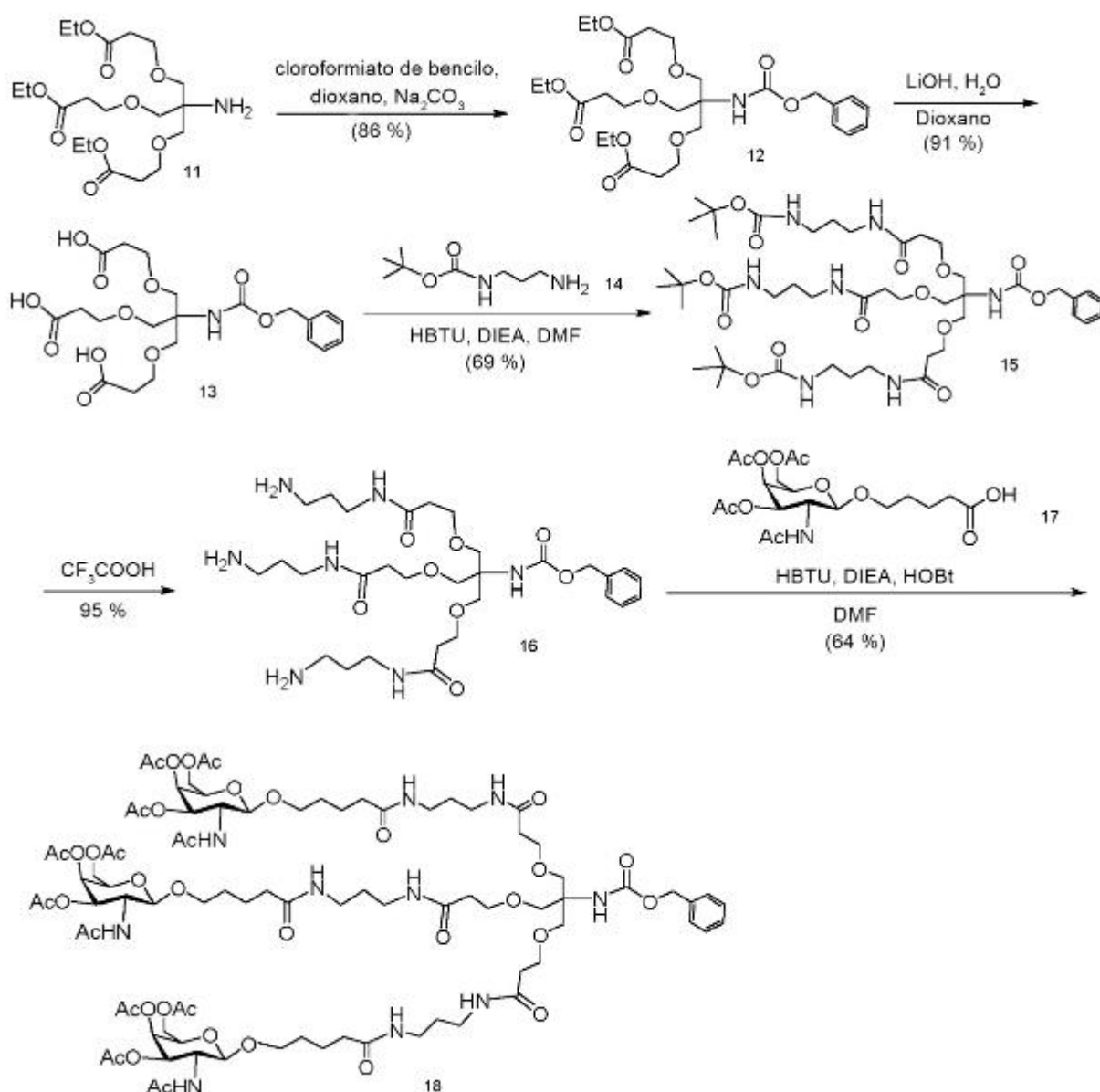
El compuesto 3 (2-acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-desoxi-β-D-galactopiranosas o pentaacetato de galactosamina) está disponible comercialmente. El compuesto 5 se preparó de acuerdo con los procedimientos publicados (Weber *et al.*, *J. Med. Chem.*, 1991, 34, 2692).

### Ejemplo 3: preparación del compuesto 11



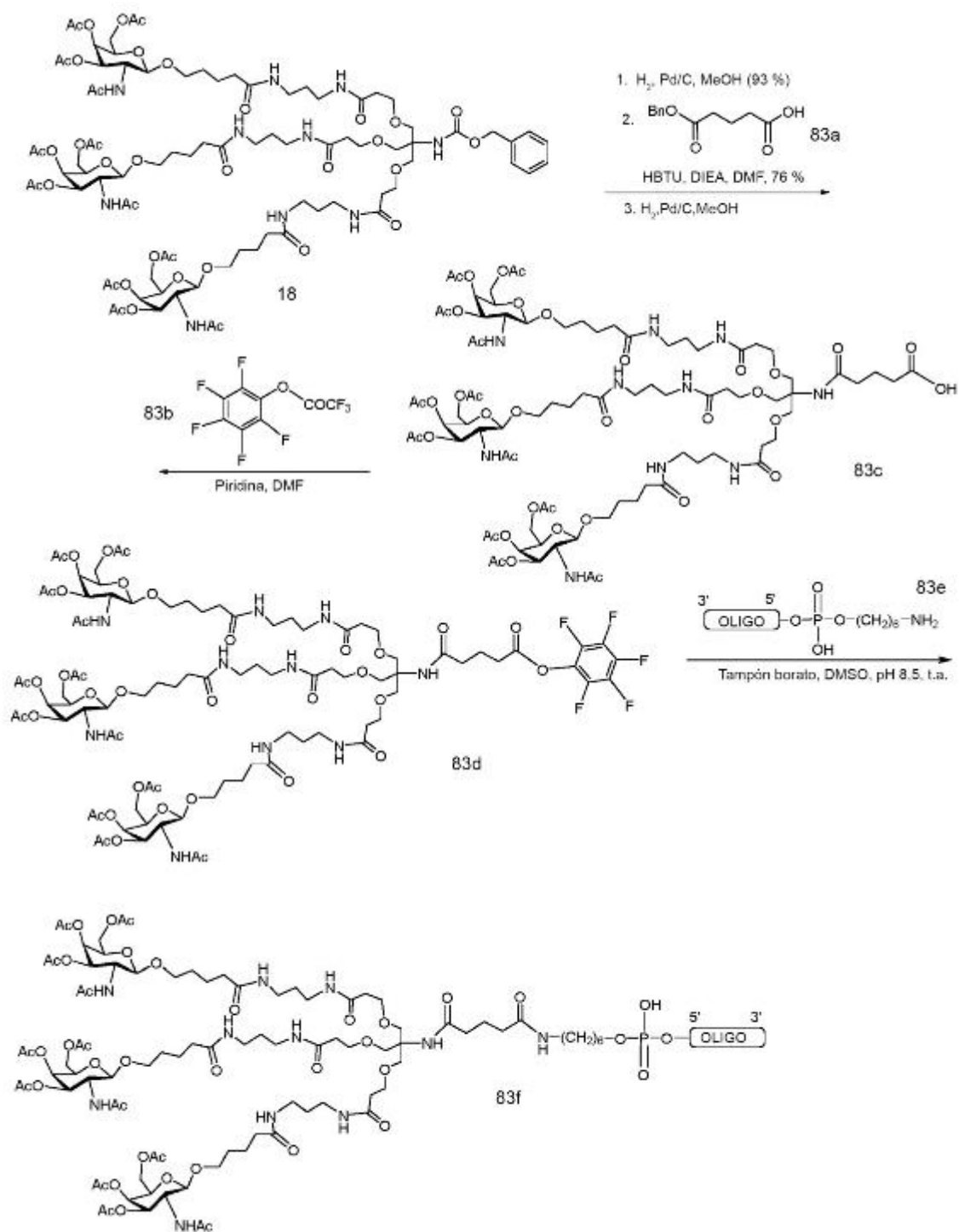
Los compuestos 8 y 9 están disponibles comercialmente.

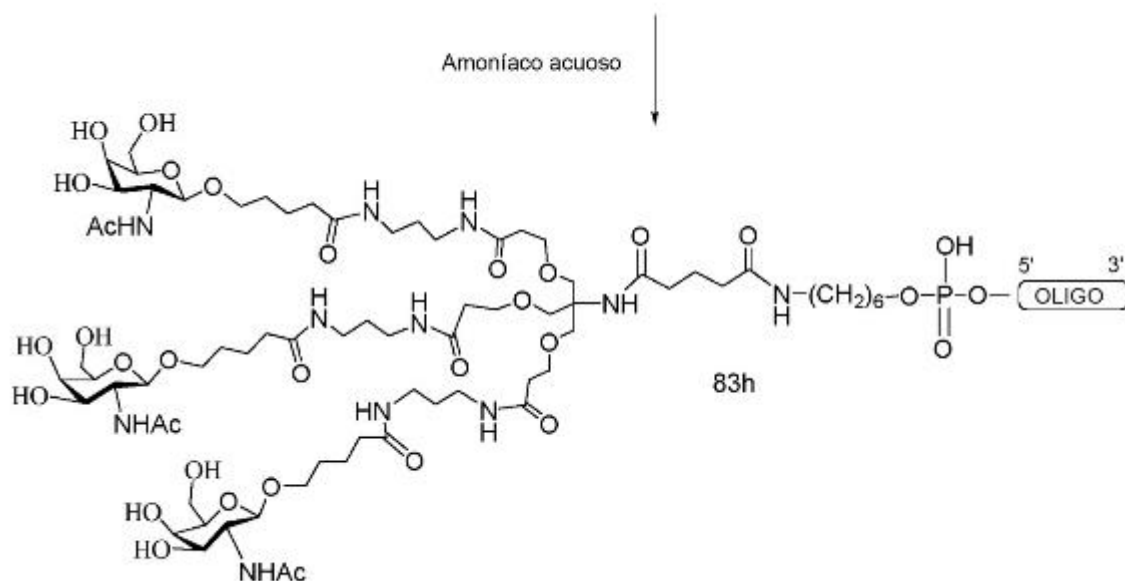
### Ejemplo 4: preparación del compuesto 18



El compuesto 11 se preparó según los procedimientos ilustrados en el ejemplo 3. El compuesto 14 está disponible comercialmente. El compuesto 17 se preparó usando procedimientos similares informados por Rensen *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2004, 47, 5798-5808.

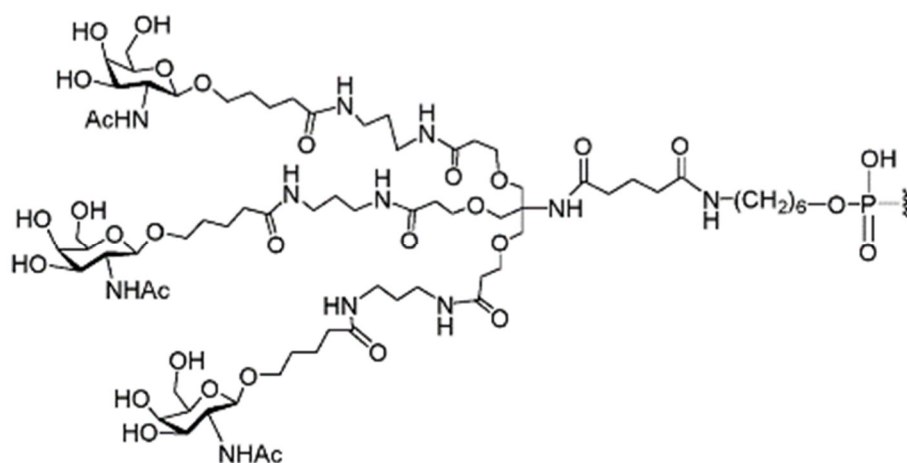
**Ejemplo 39: procedimiento general para la preparación del compuesto oligomérico 83h que comprende un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-3 en el extremo 5' (GalNAc<sub>3</sub>-1 modificado para unión al extremo 5') por medio de soporte sólido**



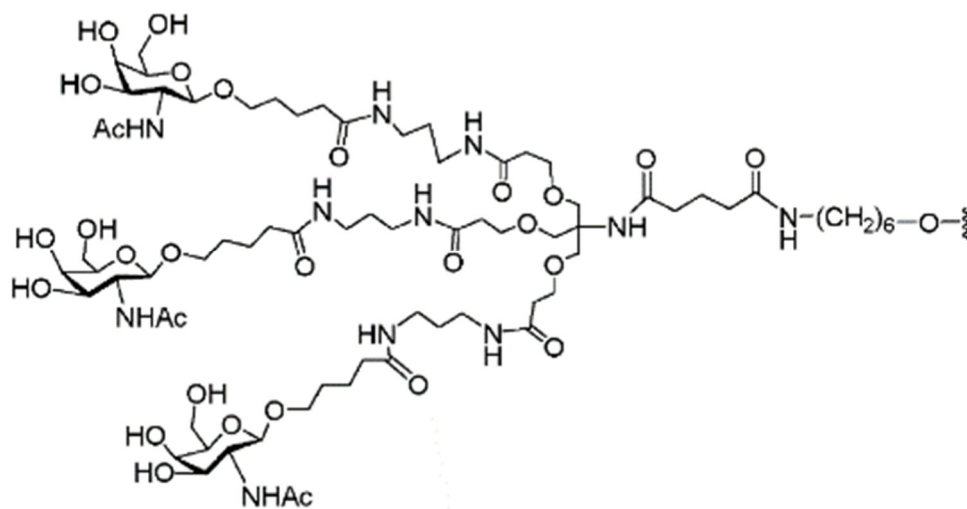


El compuesto 18 se preparó según los procedimientos ilustrados en el ejemplo 4. Los compuestos 83a y 83b están disponibles comercialmente. El compuesto oligomérico 83e que comprende una hexilamina enlazada a fosfodiéster se preparó usando procedimientos de síntesis oligonucleotídica estándar. El tratamiento del compuesto oligomérico protegido con amoníaco acuoso proporcionó el compuesto oligomérico conjugado de 5'-GalNAc<sub>3</sub>-3 (83h).

En el que  $\text{GalNAc}_3\text{-3}$  tiene la estructura:



La porción de agrupación de GalNAc<sub>3</sub> del grupo conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-3 (GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>) se puede combinar con cualquier resto escindible para proporcionar una variedad de grupos conjugados. En el que GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> tiene la fórmula:



**Ejemplo 44: efecto de enlaces PO/PS sobre la inhibición antisentido de ASO que comprenden el conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-1 (véase el ejemplo 9) en el extremo 3' dirigido a SRB-1**

ISIS 655861 y 655862 que comprenden un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-1 en el extremo 3', cada uno dirigido a SRB-1, se sometieron a prueba en un estudio de administración única para determinar su capacidad para inhibir SRB-1 en ratones. El compuesto no conjugado original, ISIS 353382, se incluyó en el estudio para comparación.

Los ASO son gámpmeros 5-10-5 MOE, en los que la región de hueco comprende diez 2'-desoxirribonucleósidos y cada región de ala comprende cinco nucleósidos 2'-MOE modificados. Los ASO se prepararon usando procedimientos similares a los ilustrados previamente en el ejemplo 19 y se describen en la tabla 36, a continuación.

**Tabla 36**

**ASO modificados que comprenden el conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-1 en el extremo 3' dirigido a SRB-1**

N.º ISIS	Secuencia (5' a 3')	Química	SEQ ID NO.
353382 (original)	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS total no conjugado	829
655861	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} -GalNAc_3-1_a$	PS total con conjugado de GalNAc <sub>3</sub> -1	830
655862	$G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} -GalNAc_3-1_a$	PS/PO mixto con conjugado de GalNAc <sub>3</sub> -1	830

Subíndices: "e" indica nucleósido 2'-MOE modificado; "d" indica β-D-2'-desoxirribonucleósido; "s" indica enlaces internucleosídicos fosforotioato (PS); "o" indica enlaces internucleosídicos fosfodiéster (PO); y "eo" indica -O-P(=O)(OH)-. El superíndice "m" indica 5-metilcitosinas. La estructura de "GalNAc<sub>3</sub>-1" se muestra en el ejemplo 9.

#### Tratamiento

A ratones Balb/c macho de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) se les inyectó por vía subcutánea una vez a la dosificación mostrada a continuación ISIS 353382, 655861, 655862 o control tratado con PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Antes del tratamiento así como después de la última dosis, se extrajo sangre de cada ratón y se analizaron muestras de plasma. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la administración final para determinar los niveles de ARNm de SRB-1 hepáticos usando PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar. Los niveles de ARNm de SRB-1 se determinaron en relación con ARN total (usando Ribogreen), antes de la normalización al control tratado con PBS. Los resultados a continuación se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de ARNm de SRB-1 para cada grupo de tratamiento, normalizados al control tratado con PBS y se indican como "% de PBS". Las DE<sub>50</sub> se midieron usando procedimientos similares a los descritos previamente y se informan a continuación.



Como se ilustra en la tabla 37, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo los niveles de ARNm de SRB-1 de manera dependiente de la dosis en comparación con el control tratado con PBS. De hecho, los oligonucleótidos antisentido que comprenden el conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-1 en el extremo 3' (ISIS 655861 y 655862) mostraron una mejora sustancial en la potencia en comparación con el oligonucleótido antisentido no conjugado (ISIS 353382). Además, ISIS 655862 con enlaces PS/PO mixtos mostró una mejora en la potencia en relación con PS total (ISIS 655861).

**Tabla 37**

**Efecto de enlaces PO/PS sobre la inhibición antisentido de ASO que comprenden el conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-1 en el extremo 3' dirigido a SRB-1**

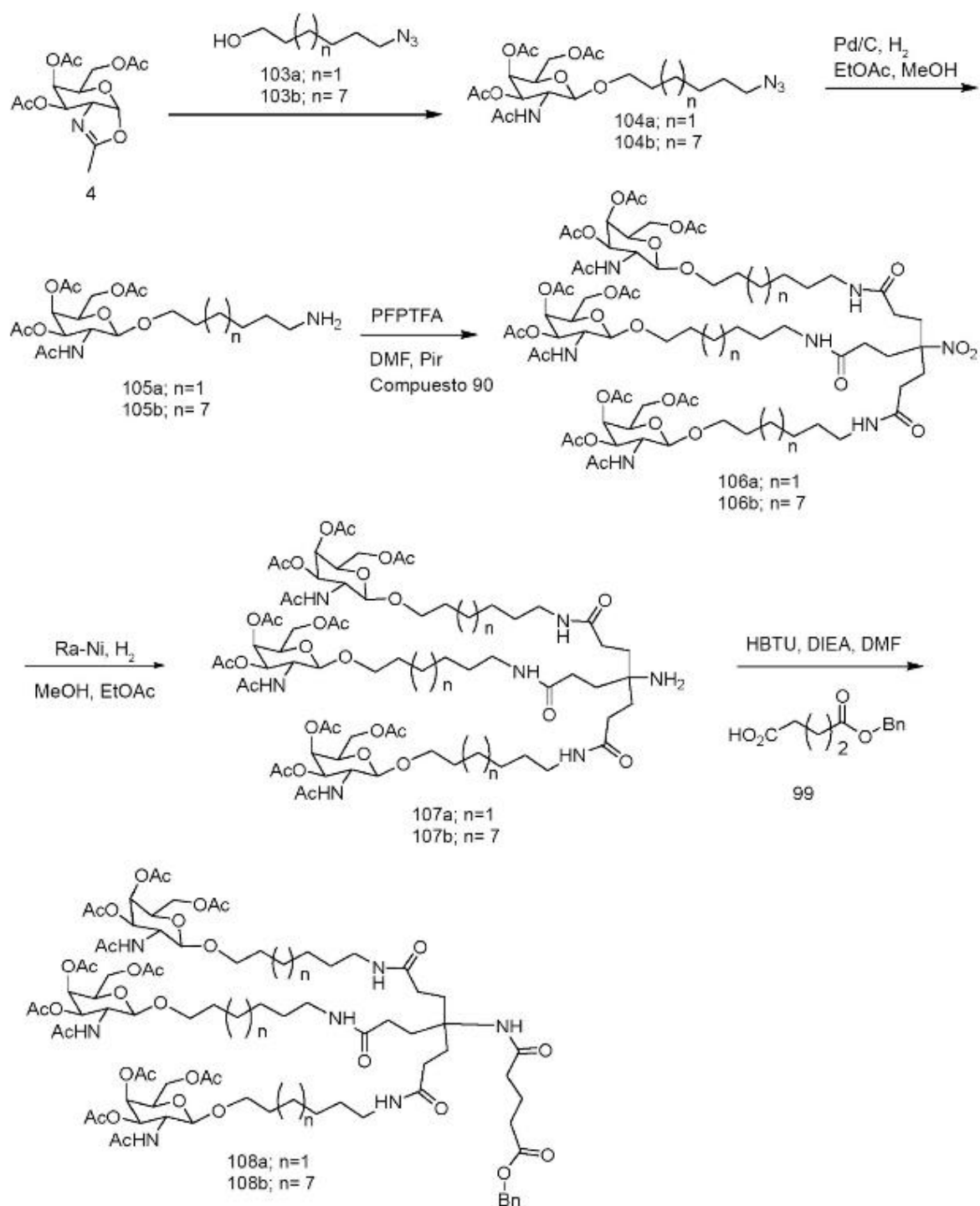
N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	Niveles de ARNm de SRB-1 (% PBS)	DE <sub>50</sub> (mg/kg)	Química	SEQ ID NO.
PBS	0	100	--	--	
353382 (original)	3	76,65	10,4	PS total sin conjugado	829
	10	52,40			
	30	24,95			
655861	0,5	81,22	2,2	PS total con conjugado de GalNAc <sub>3</sub> -1	830
	1,5	63,51			
	5	24,61			
	15	14,80			
655862	0,5	69,57	1,3	PS/PO mixto con conjugado de GalNAc <sub>3</sub> -1	830
	1,5	45,78			
	5	19,70			
	15	12,90			

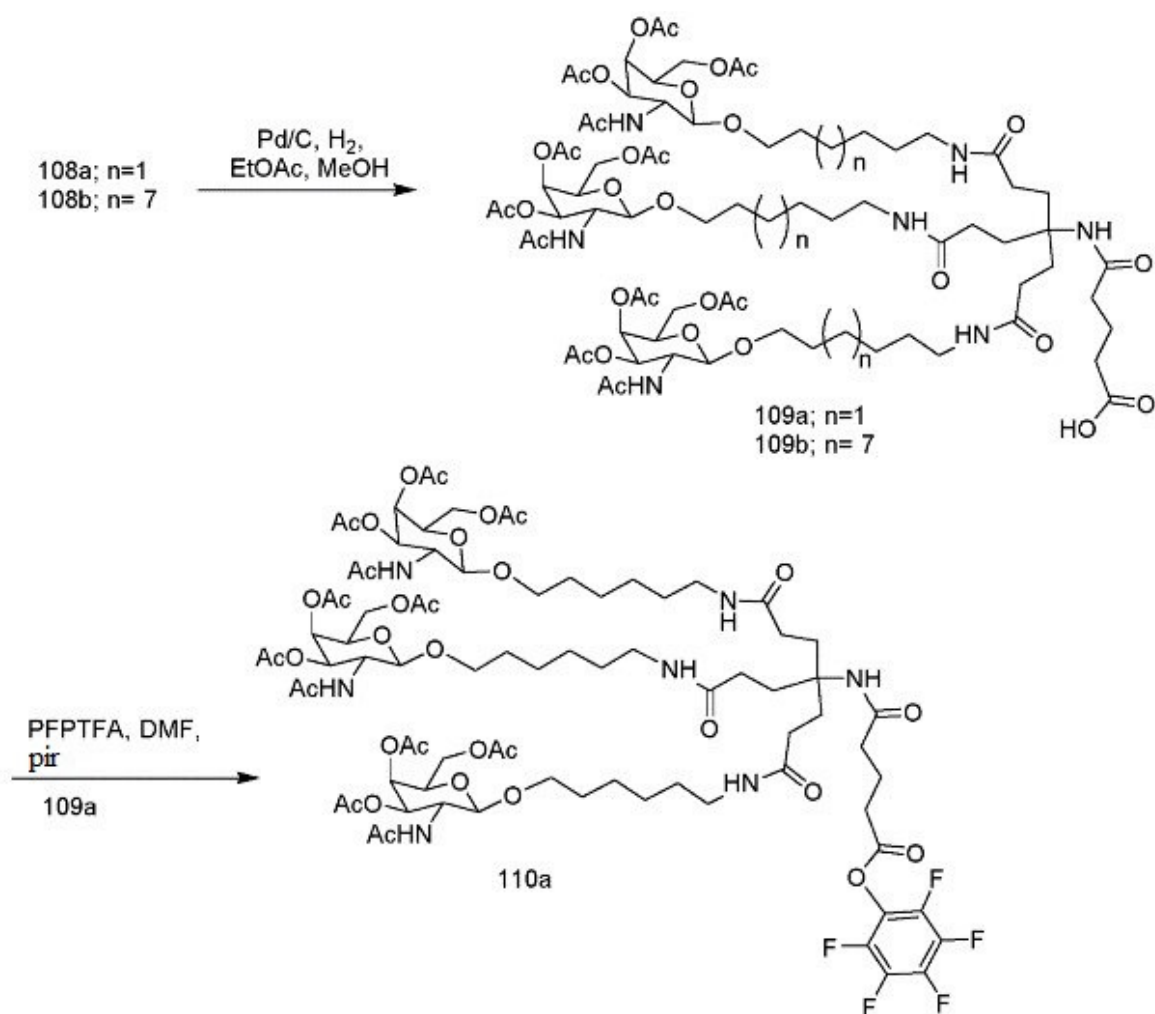
Los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), en suero, se midieron en relación con ratones inyectados con solución salina usando protocolos estándar. También se evaluaron los pesos de órganos. Los resultados demostraron que no se observó elevación en los niveles de transaminasas (tabla 38) o en pesos de órganos (datos no mostrados) en ratones tratados con ASO en comparación con el control de PBS. Además, el ASO con enlaces PS/PO mixtos (ISIS 655862) mostró niveles de transaminasas similares en comparación con PS completo (ISIS 655861).

**Tabla 38**

**Efecto de enlaces PO/PS sobre los niveles de transaminasas de ASO que comprenden el conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-1 en el extremo 3' dirigido a SRB-1**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ALT (U/l)	AST (U/l)	Química	SEQ ID NO.
PBS	0	28,5	65	--	
353382 (original)	3	50,25	89	PS total sin conjugado	829
	10	27,5	79,3		
	30	27,3	97		
655861	0,5	28	55,7	PS total con GalNAc <sub>3</sub> -1	830
	1,5	30	78		
	5	29	63,5		
	15	28,8	67,8		
655862	0,5	50	75,5	PS/PO mixto con GalNAc <sub>3</sub> -1	830
	1,5	21,7	58,5		
	5	29,3	69		
	15	22	61		

**Ejemplo 45: preparación de éster PFP, compuesto 110a**



El compuesto 4 (9,5 g, 28,8 mmol) se trató con el compuesto 103a o 103b (38 mmol), individualmente, y TMSOTf (0,5 eq.) y tamices moleculares en diclorometano (200 ml), y se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. En ese momento, la capa orgánica se filtró a través de celite, a continuación se lavó con bicarbonato de sodio, agua y salmuera. A continuación, la capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se redujo a presión reducida. El aceite resultante se purificó por cromatografía en gel de sílice (2 %->10 % de metanol/diclorometano) para dar los compuestos 104a y 104b con un rendimiento de un >80 %. CLEM y RMN de protones fueron consecuentes con la estructura.

Los compuestos 104a y 104b se trataron en las mismas condiciones que para los compuestos 100a-d (ejemplo 47), para dar los compuestos 105a y 105b con un rendimiento de un >90 %. CLEM y RMN de protones fueron consecuentes con la estructura.

Los compuestos 105a y 105b se trataron individualmente con el compuesto 90 en las mismas condiciones que para los compuestos 901a-d, para dar los compuestos 106a (80 %) y 106b (20 %). CLEM y RMN de protones fueron consecuentes con la estructura.

Los compuestos 106a y 106b se trataron en las mismas condiciones que para los compuestos 96a-d (ejemplo 47), para dar 107a (60 %) y 107b (20 %). CLEM y RMN de protones fueron consecuentes con la estructura.

Los compuestos 107a y 107b se trataron en las mismas condiciones que para los compuestos 97a-d (ejemplo 47), para dar los compuestos 108a y 108b con un rendimiento de un 40-60 %. CLEM y RMN de protones fueron consecuentes con la estructura.

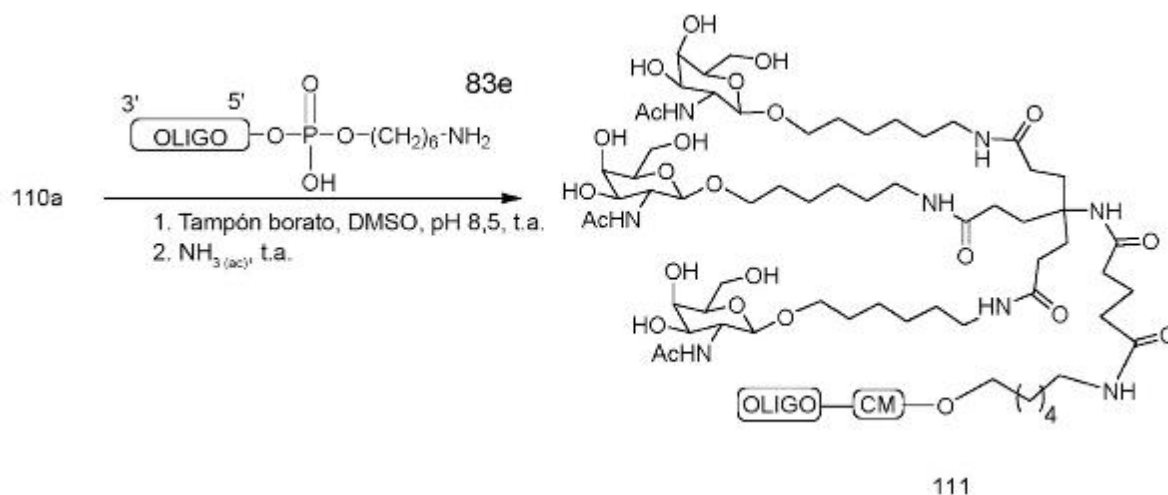
Los compuestos 108a (60 %) y 108b (40 %) se trataron en las mismas condiciones que para los compuestos 100a-d (ejemplo 47), para dar los compuestos 109a y 109b con rendimientos de un >80 %. CLEM y RMN de protones fueron consecuentes con la estructura.

El compuesto 109a se trató en las mismas condiciones que para los compuestos 101a-d (ejemplo 47). para dar el

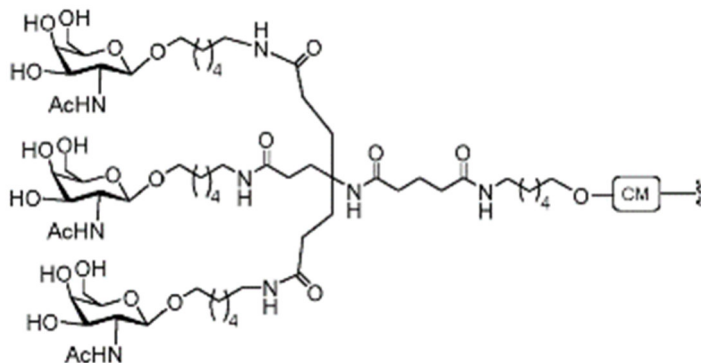
compuesto 110a con un rendimiento de un 30-60 %. CLEM y RMN de protones fueron consecuentes con la estructura. De forma alternativa, el compuesto 110b se puede preparar de forma similar comenzando con el compuesto 109b.

**5 Ejemplo 46: procedimiento general para conjugación con ésteres de PEP (oligonucleótido 111); preparación de ISIS 666881 (GalNAc<sub>3</sub>-10)**

Un oligonucleótido 5'-hexilamino modificado se sintetizó y purificó usando procedimientos de oligonucleótidos en fase sólida estándar. El oligonucleótido 5'-hexilamino modificado se disolvió en tetraborato de sodio 0,1 M, pH 8,5 (200 µl) y se añadieron 3 equivalentes de una agrupación de GalNAc<sub>3</sub> esterificada con PFP seleccionada disuelta en DMSO (50 µl). Si el éster PFP precipitó tras la adición a la solución de ASO, se añadió DMSO hasta que todo el éster PFP estuvo en solución. La reacción se completó después de aproximadamente 16 h de mezclado a temperatura ambiente. La solución resultante se diluyó con agua hasta 12 ml y a continuación se centrifugó a 3000 rpm en un filtro giratorio con un límite de masa de 3000 Da. Este proceso se repitió dos veces para retirar impurezas de moléculas pequeñas. A continuación, la solución se liofilizó hasta sequedad y se redisolvió en amoníaco acuoso concentrado y se mezcló a temperatura ambiente durante 2,5 h, seguido de concentración al vacío para retirar la mayor parte del amoníaco. El oligonucleótido conjugado se purificó y desaló por RP-HPLC y se liofilizó para proporcionar el oligonucleótido conjugado de GalNAc<sub>3</sub>.



El oligonucleótido 111 se conjuga con GalNAc<sub>3</sub>-10. La porción de agrupación de GalNAc<sub>3</sub> del grupo conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-10 (GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>) se puede combinar con cualquier resto escindible para proporcionar una variedad de grupos conjugados. En determinados modos de realización, el resto escindible es -P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)- como se muestra en el oligonucleótido (ISIS 666881) sintetizado con GalNAc<sub>3</sub>-10 a continuación. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-10 (GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>-CM-) se muestra a continuación:



30 Siguiendo este procedimiento general se preparó ISIS 666881. El oligonucleótido 5'-hexilamino modificado, ISIS 660254, se sintetizó y purificó usando procedimientos de oligonucleótidos en fase sólida estándar. Se disolvió ISIS 660254 (40 mg, 5,2 µmol) en tetraborato de sodio 0,1 M, pH 8,5 (200 µl) y se añadieron 3 equivalentes de éster PFP (compuesto 110a) disueltos en DMSO (50 µl). El éster PFP precipitó tras la adición a la solución de ASO, lo que requirió DMSO adicional (600 µl) para disolver totalmente el éster PFP. La reacción se completó después de 16 h de mezclado a temperatura ambiente. La solución se diluyó con agua hasta un volumen total de 12 ml y se

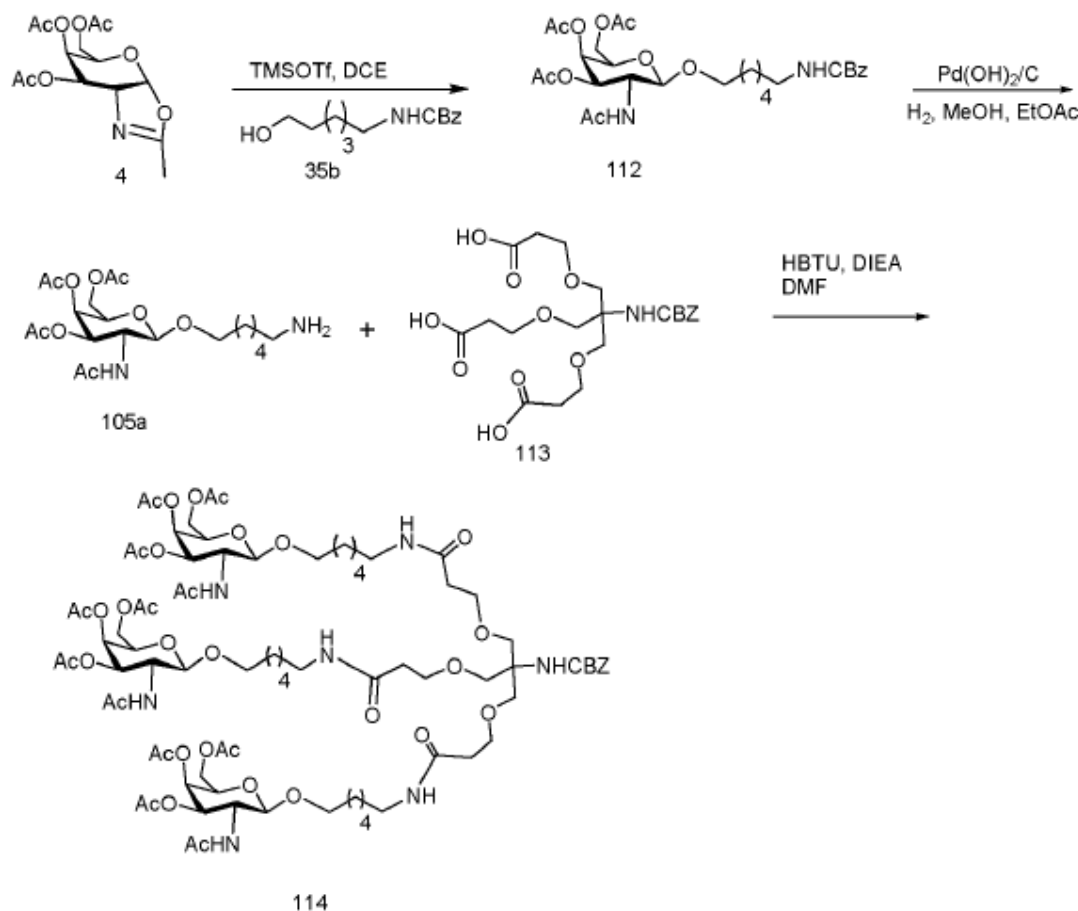
centrifugó a 3000 rpm en un filtro giratorio con un límite de masa de 3000 Da. Este proceso se repitió dos veces para retirar impurezas de moléculas pequeñas. La solución se liofilizó hasta sequedad y se redisolvió en amoníaco acuoso concentrado mezclando a temperatura ambiente durante 2,5 h, seguido de concentración a vacío para retirar la mayor parte del amoníaco. El oligonucleótido conjugado se purificó y desaló por RP-HPLC y se liofilizó para dar ISIS 666881 con un rendimiento de un 90 % en peso (42 mg, 4,7  $\mu$ mol).

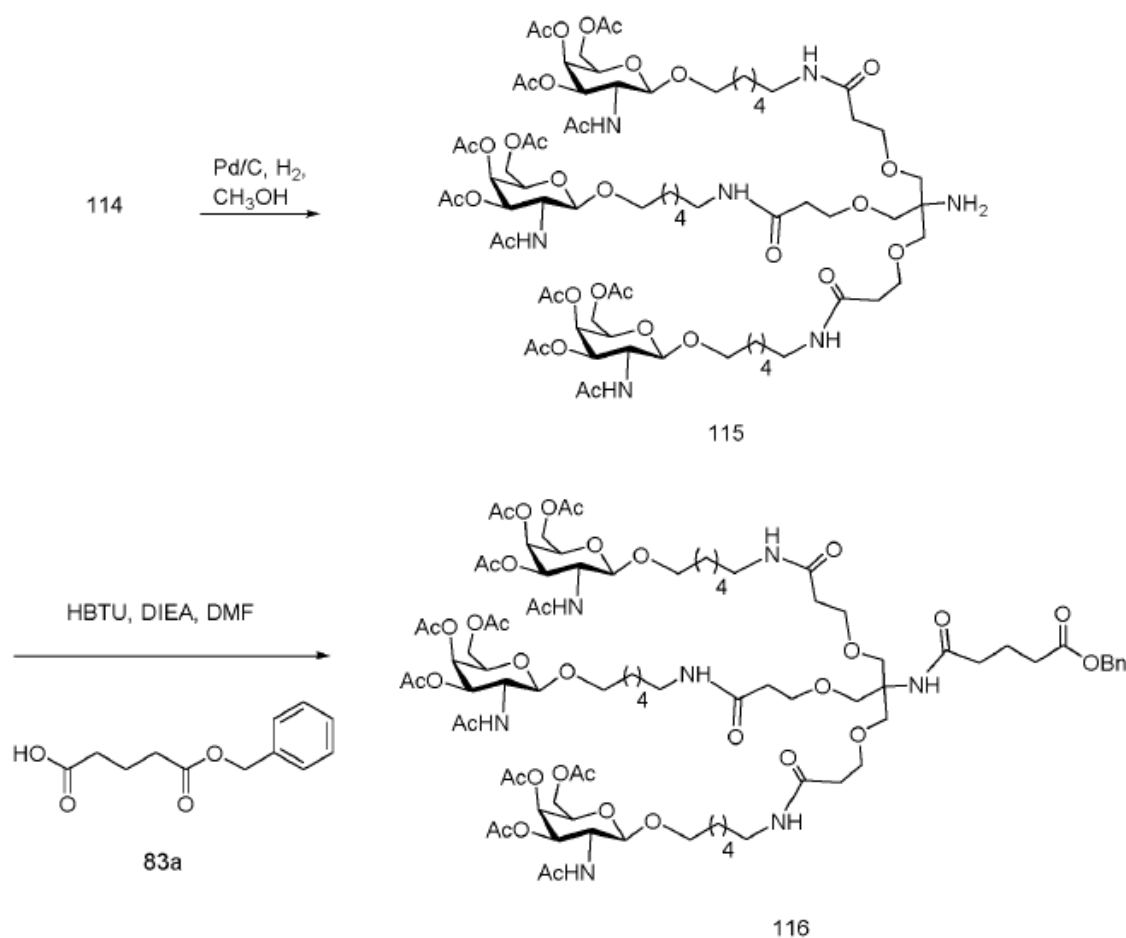
#### Oligonucleótido conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-10

ASO	Secuencia (5' a 3')	grupo 5'	SEQ ID NO.
ISIS 660254	$\begin{array}{c} \text{NH}_2(\text{CH}_2)_6- \\ \text{o}^{\bullet}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}} \\ \text{m}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}} \end{array}$	Hexilamina	831
ISIS 666881	$\begin{array}{c} \text{GalNAc}_3\text{-10a-} \\ \text{o}^{\bullet}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}} \\ \text{m}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}} \end{array}$	GalNAc <sub>3</sub> -10	831

Las letras mayúsculas indican la nucleobase para cada nucleósido y <sup>m</sup>C indica una 5-metil-citosina. Subíndices: "e" indica un nucleósido 2'-MOE modificado; "d" indica un  $\beta$ -D-2'-desoxirribonucleósido; "s" indica un enlace internucleosídico (PS) fosforotioato; "o" indica un enlace internucleosídico fosfodiéster (PO); y "o'" indica -O-P(=O)(OH)-. Los grupos conjugados están en negrita.

#### Ejemplo 48: preparación de oligonucleótido 119 que comprende GalNAc<sub>3</sub>-7





El compuesto 112 se sintetizó siguiendo el procedimiento descrito en la literatura (*J. Med. Chem.* 2004, 47, 5798-5808).

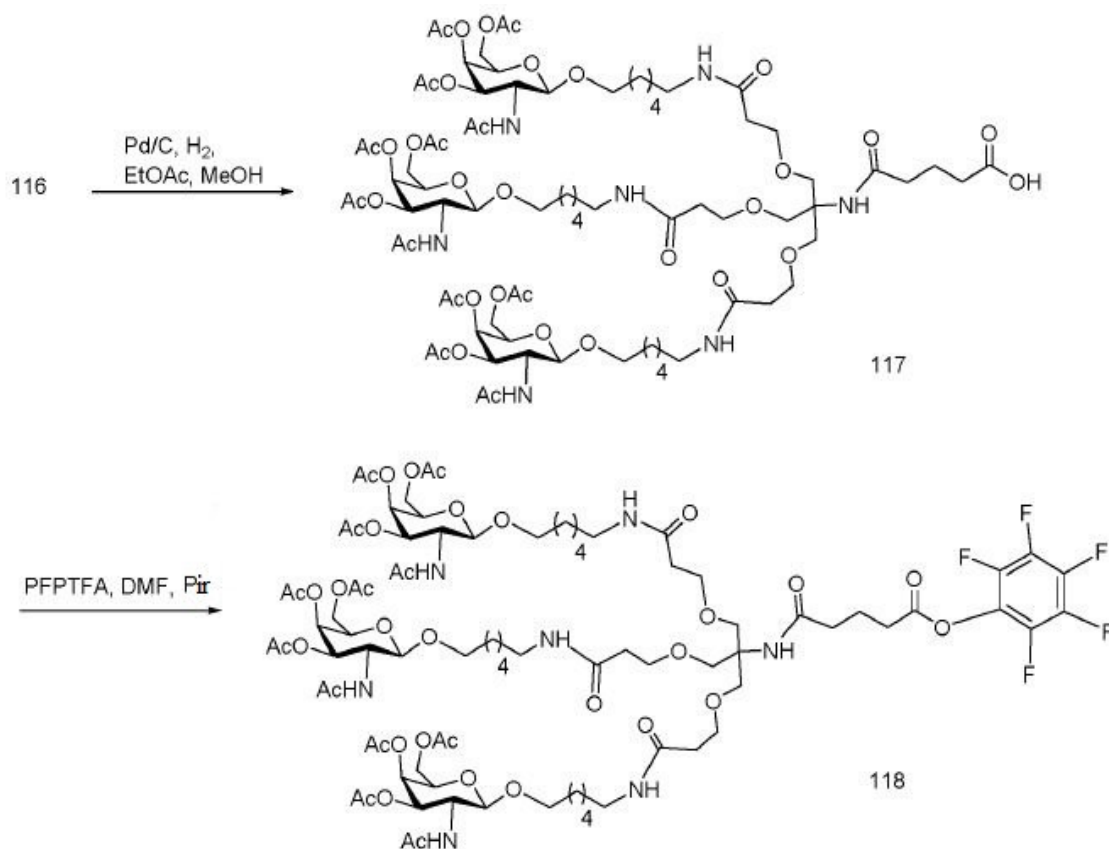
El compuesto 112 (5 g, 8,6 mmol) se disolvió en metanol/acetato de etilo 1:1 (22 ml/22 ml). Se añadió hidróxido de paladio sobre carbono (0,5 g). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo hidrógeno durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó la almohadilla con metanol/acetato de etilo 1:1. El filtrado y los lavados se combinaron y se concentró hasta sequedad para proporcionar el compuesto 105a (cuantitativo). La estructura se confirmó por CLEM.

El compuesto 113 (1,25 g, 2,7 mmol), HBTU (3,2 g, 8,4 mmol) y DIEA (2,8 ml, 16,2 mmol) se disolvieron en DMF anhidra (17 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A esto se le añadió una solución del compuesto 105a (3,77 g, 8,4 mmol) en DMF anhidra (20 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El disolvente se retiró a presión reducida para obtener un aceite. El residuo se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml) y se lavó con solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (100 ml) y salmuera (100 ml). La fase orgánica se separó, secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice y se eluyó con MeOH del 10 al 20 % en diclorometano para proporcionar el compuesto 114 (1,45 g, 30 %). La estructura se confirmó por CLEM y análisis de RMN de  $^1\text{H}$ .

El compuesto 114 (1,43 g, 0,8 mmol) se disolvió en metanol/acetato de etilo 1:1 (4 ml/4 ml). Se añadió paladio sobre carbono (húmedo, 0,14 g). La mezcla de reacción se purgó con hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente bajo hidrógeno durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite. La almohadilla de celite se lavó con metanol/acetato de etilo (1:1). El filtrado y los lavados se combinaron juntos y se evaporó a presión reducida para proporcionar el compuesto 115 (cuantitativo). La estructura se confirmó por CLEM y análisis de RMN de  $^1\text{H}$ .

El compuesto 83a (0,17 g, 0,75 mmol), HBTU (0,31 g, 0,83 mmol) y DIEA (0,26 ml, 1,5 mmol) se disolvieron en DMF anhidra (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A esto se le añadió una solución del compuesto 115 (1,22 g, 0,75 mmol) en DMF anhidra y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La capa orgánica se lavó con solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se filtró. La capa orgánica

se concentró hasta sequedad y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice y se eluyó con MeOH del 3 al 15 % en diclorometano para proporcionar el compuesto 116 (0,84 g, 61 %). La estructura se confirmó por CLEM y análisis de RMN de  $^1\text{H}$ .



5

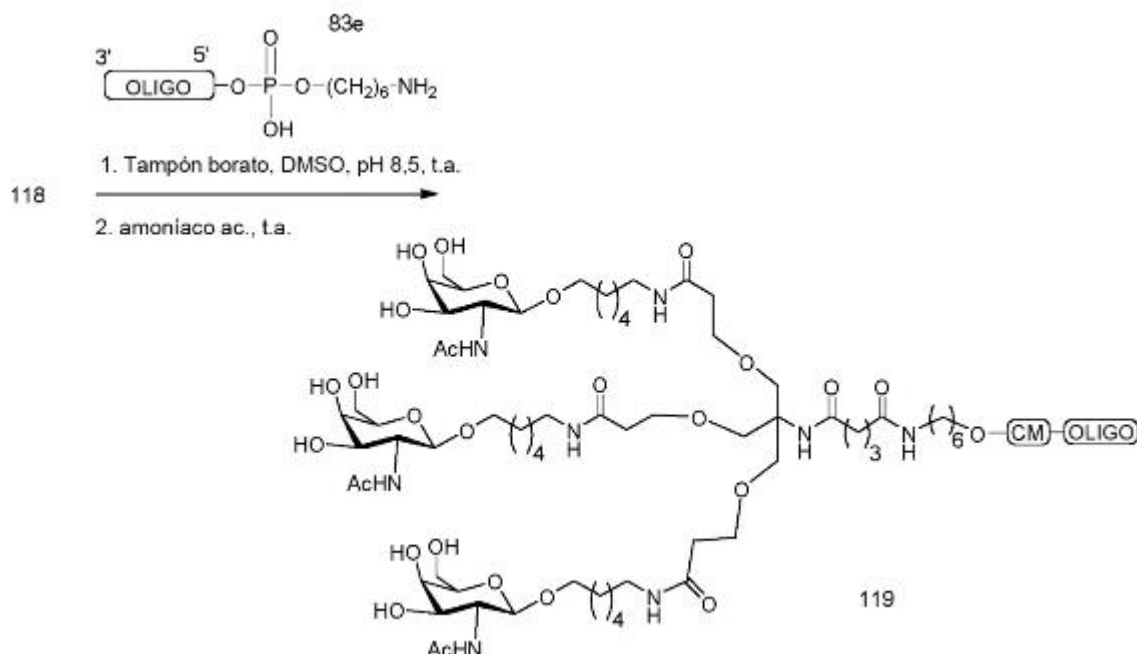
10

El compuesto 116 (0,74 g, 0,4 mmol) se disolvió en metanol/acetato de etilo 1:1 (5 ml/5 ml). Se añadió paladio sobre carbono (húmedo, 0,074 g). La mezcla de reacción se purgó con hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente bajo hidrógeno durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite. La almohadilla de celite se lavó con metanol/acetato de etilo (1:1). El filtrado y los lavados se combinaron juntos y se evaporó a presión reducida para proporcionar el compuesto 117 (0,73 g, 98 %). La estructura se confirmó por CLEM y análisis de RMN de  $^1\text{H}$ .

15

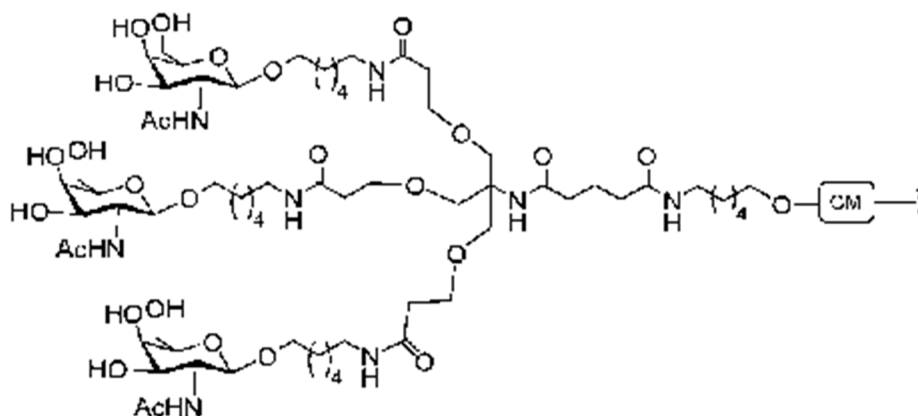
El compuesto 117 (0,63 g, 0,36 mmol) se disolvió en DMF anhidra (3 ml). A esta solución se añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (70  $\mu\text{l}$ , 0,4 mmol) y trifluoroacetato de pentafluorofenilo (72  $\mu\text{l}$ , 0,42 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y se vertió en una solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . La mezcla se extrajo con diclorometano, se lavó con salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La solución de diclorometano se concentró hasta sequedad y se purificó con cromatografía en columna en gel de sílice y se eluyó con MeOH del 5 al 10 % H en diclorometano para proporcionar el compuesto 118 (0,51 g, 79 %). La estructura se confirmó por CLEM y RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{19}\text{F}$ .

20

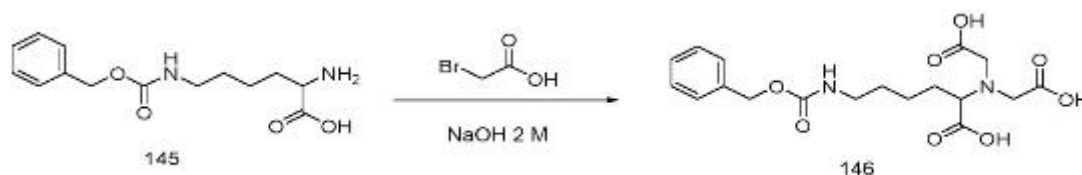


El compuesto oligomérico 119, que comprende un grupo conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-7, se preparó usando los procedimientos generales ilustrados en el ejemplo 46. La porción de agrupación GalNAc<sub>3</sub> del grupo conjugado de GalNAc<sub>3</sub>-7 (GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>) se puede combinar con cualquier resto escindible para proporcionar una variedad de grupos conjugados. En determinados modos de realización, el resto escindible es -P(=O)(OH)-A<sub>n</sub>-P(=O)(OH)-.

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7 (GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>-CM-) se muestra a continuación:

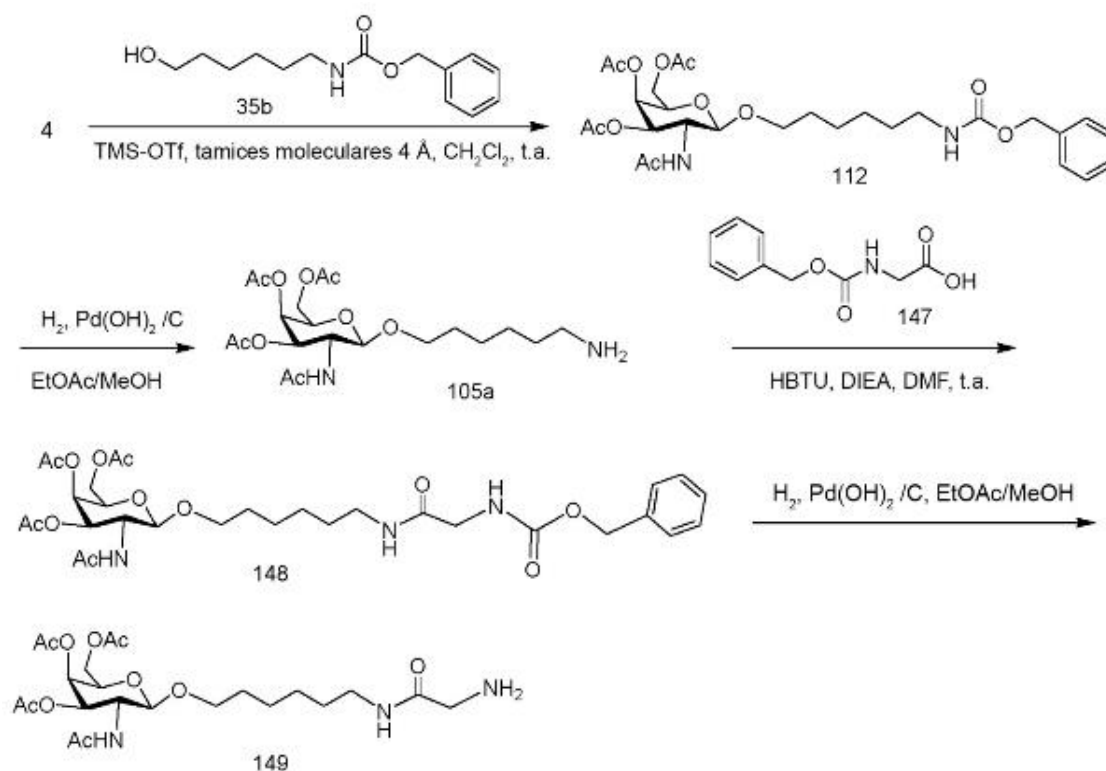


#### Ejemplo 51: preparación de oligonucleótido 155 que comprende GalNAc<sub>3</sub>-6



El compuesto 146 se sintetizó como se describe en la literatura (*Analytical Biochemistry* 1995, 229, 54-60).



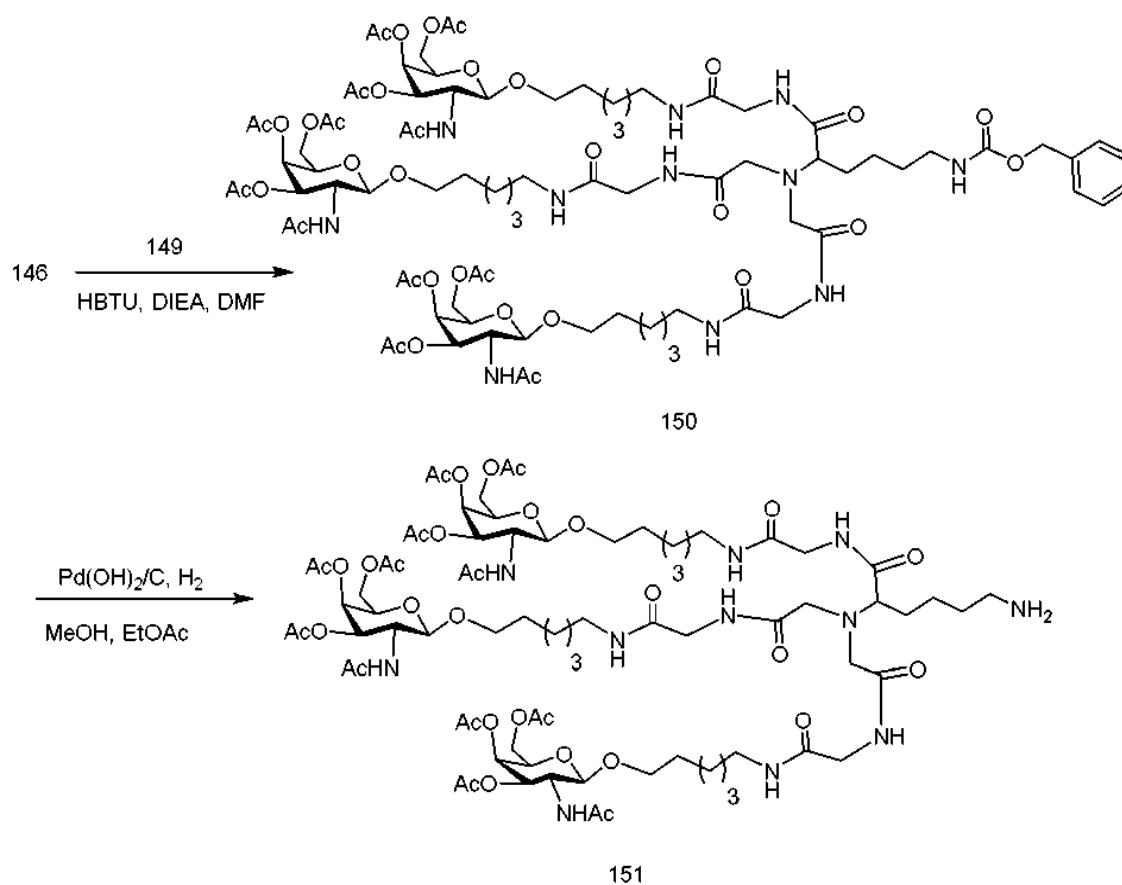


El compuesto 4 (15 g, 45,55 mmol) y el compuesto 35b (14,3 gramos, 57 mmol) se disolvieron en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 ml). Se añadieron tamices moleculares activados (4 Å, 2 g, en polvo) y la reacción se dejó en agitación durante 30 minutos en atmósfera de nitrógeno. Se añadió TMS-OTf (4,1 l, 22,77 mmol) y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante la noche. Tras la finalización, la reacción se desactivó vertiéndola en una solución de  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado (500 ml) y hielo picado (~ 150 g). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró a un aceite naranja a presión reducida. El material bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice y se eluyó con MeOH al 2-10 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  para proporcionar el compuesto 112 (16,53 g, 63 %). CLEM y RMN de  $^1\text{H}$  fueron consecuentes con el compuesto esperado.

El compuesto 112 (4,27 g, 7,35 mmol) se disolvió en MeOH/EtOAc 1:1 (40 ml). La mezcla de reacción se purgó burbujando una corriente de argón a través de la solución durante 15 minutos. Se añadió catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbono, 400 mg) y se burbujó gas hidrógeno a través de la solución durante 30 minutos. Tras la finalización (TLC, MeOH al 10 % MeOH en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y CLEM), el catalizador se retiró por filtración a través de una almohadilla de celite. El filtrado se concentró por evaporación rotatoria y se secó brevemente a alto vacío para proporcionar el compuesto 105a (3,28 g). CLEM y RMN de  $^1\text{H}$  fueron consecuentes con el producto deseado.

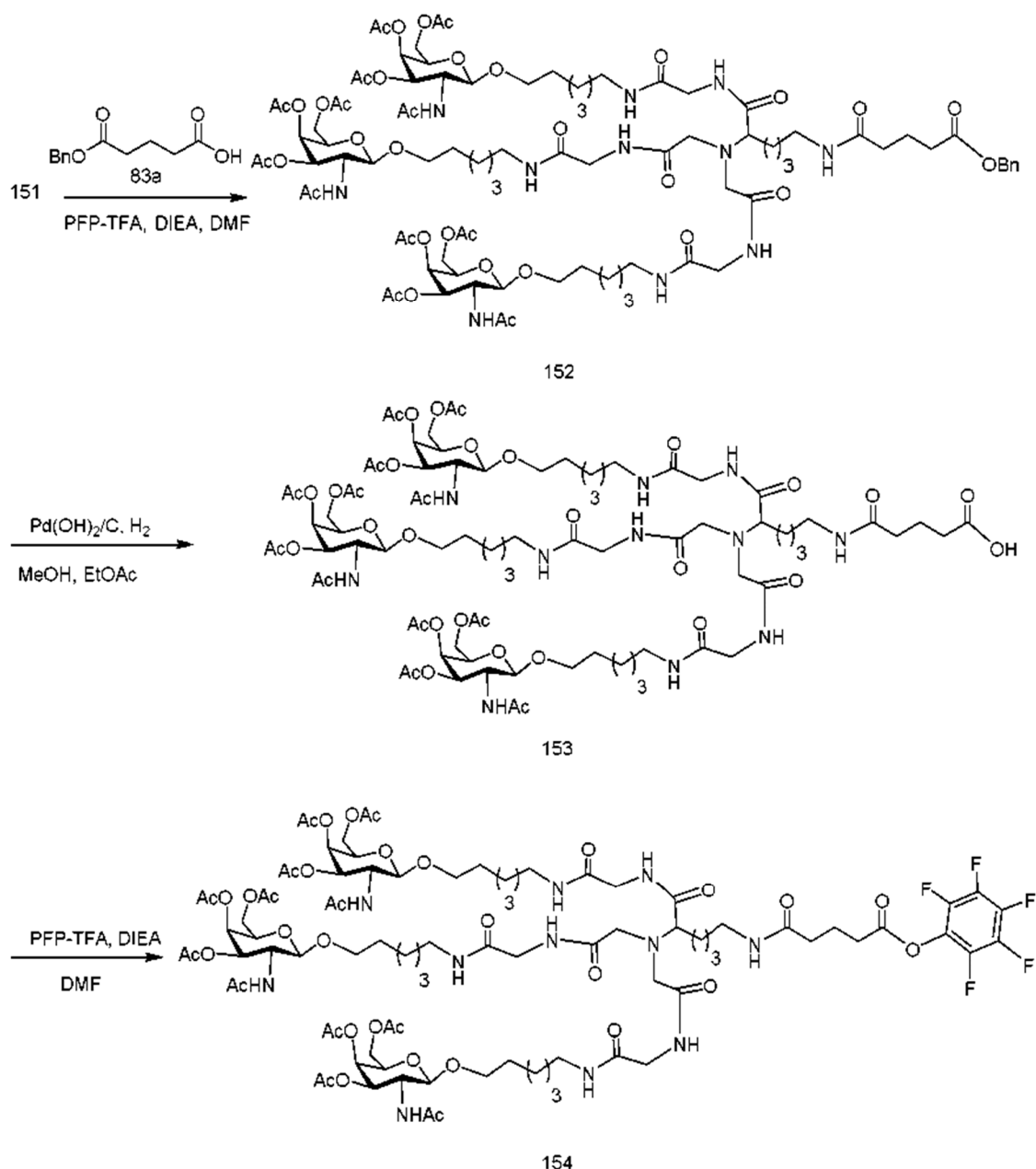
El compuesto 147 (2,31 g, 11 mmol) se disolvió en DMF anhidra (100 ml). Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (DIEA, 3,9 ml, 22 mmol), seguido de HBTU (4 g, 10,5 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante ~ 15 minutos bajo nitrógeno. A esto se le añadió una solución del compuesto 105a (3,3 g, 7,4 mmol) en DMF seca y se agitó durante 2 h en atmósfera de nitrógeno. La reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado y salmuera. La fase orgánica se separó, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se concentró hasta un jarabe naranja. El material bruto se purificó por cromatografía en columna, Material por cromatografía al 2-5 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , para proporcionar el compuesto 148 (3,44 g, 73 %). CLEM y RMN de  $^1\text{H}$  fueron consecuentes con el producto esperado.

El compuesto 148 (3,3 g, 5,2 mmol) se disolvió en MeOH/EtOAc 1:1 (75 ml). La mezcla de reacción se purgó burbujando una corriente de argón a través de la solución durante 15 minutos. Se añadió catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbono) (350 mg). Se burbujó gas hidrógeno a través de la solución durante 30 minutos. Tras la finalización (TLC, MeOH al 10 % en DCM y CLEM), el catalizador se retiró por filtración a través de una almohadilla de celite. El filtrado se concentró por evaporación rotatoria y se secó brevemente a alto vacío para proporcionar el compuesto 149 (2,6 g). CLEM fue consecuente con el producto deseado. El residuo se disolvió en DMF seco (10 ml) y se usó de inmediato en la siguiente etapa.



El compuesto 146 (0,68 g, 1,73 mmol) se disolvió en DMF seca (20 ml). A esto se le añadieron DIEA (450  $\mu\text{l}$ , 2,6 mmol, 1,5 eq.) y HBTU (1,96 g, 0,5,2 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 15 minutos a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se añadió una solución del compuesto 149 (2,6 g) en DMF anhidra (10 ml). El pH de la reacción se ajustó hasta pH = 9-10 por adición de DIEA (si era necesario). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 2 h. Tras la finalización, la reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado, seguido de salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice y se eluyó con MeOH al 2-10 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  para proporcionar el compuesto 150 (0,62 g, 20 %). CLEM y RMN de  $^1\text{H}$  fueron consecuentes con el producto deseado.

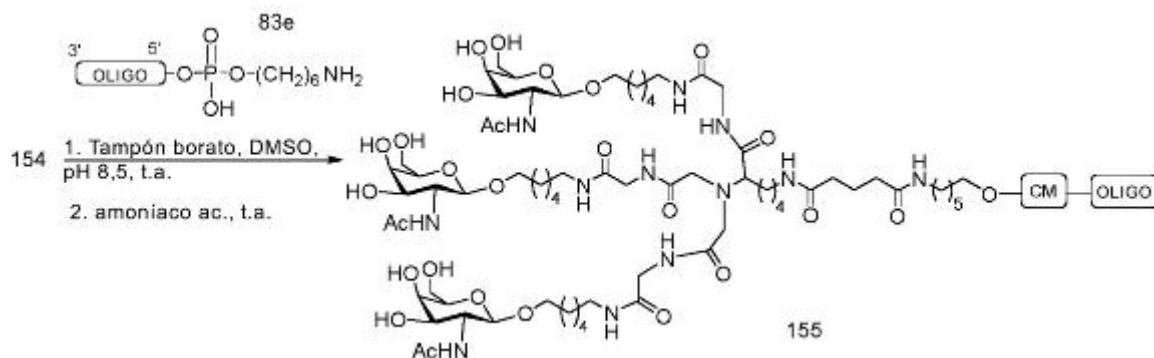
El compuesto 150 (0,62 g) se disolvió en MeOH/EtOAc 1:1 (5 l). La mezcla de reacción se purgó burbujeando una corriente de argón a través de la solución durante 15 minutos. Se añadió catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbono) (60 mg). Se burbujeó gas hidrógeno a través de la solución durante 30 minutos. Tras la finalización (TLC, MeOH al 10 % en DCM y CLEM), el catalizador se retiró por filtración (filtro de teflón con punta de jeringuilla, 0,45  $\mu\text{m}$ ). El filtrado se concentró por evaporación rotatoria y se secó brevemente a alto vacío para proporcionar el compuesto 151 (0,57 g). La CLEM fue consecuente con el producto deseado. El producto se disolvió en 4 ml de DMF seca y se usó de inmediato en la siguiente etapa.



Se disolvió el compuesto 83a (0,11 g, 0,33 mmol) en DMF anhidra (5 ml) y se añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (75  $\mu\text{l}$ , 1 mmol) y PFP-TFA (90  $\mu\text{l}$ , 0,76 mmol). La mezcla de reacción se volvió fucsia tras el contacto y gradualmente se volvió naranja durante los siguientes 30 minutos. El progreso de la reacción se siguió por TLC y CLEM. Tras la finalización (formación del éster PFP), se añadió una solución del compuesto 151 (0,57 g, 0,33 mmol) en DMF. El pH de la reacción se ajustó hasta pH = 9-10 por adición de *N,N*-diisopropiletilamina (si era necesario). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno durante ~ 30 min. Tras la finalización, la mayoría del disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado, seguido de salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró hasta un jarabe naranja. El residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (MeOH al 2-10 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) para proporcionar el compuesto 152 (0,35 g, 55 %). CLEM y RMN de  $^1\text{H}$  fueron consecuentes con el producto deseado.

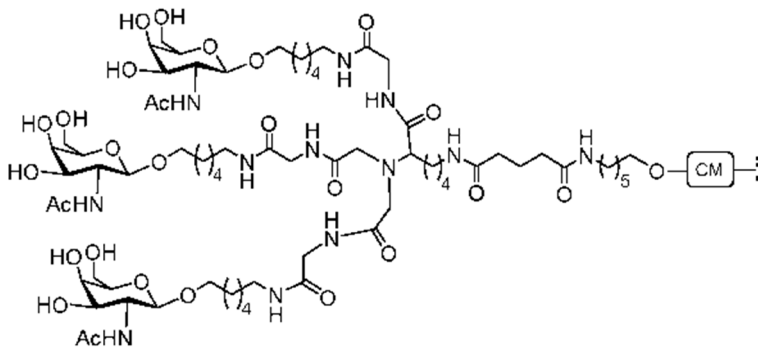
El compuesto 152 (0,35 g, 0,182 mmol) se disolvió en MeOH/EtOAc 1:1 (10 ml). La mezcla de reacción se purgó burbujando una corriente de argón a través de la solución durante 15 minutos. Se añadió catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbono) (35 mg). Se burbujó gas hidrógeno a través de la solución durante 30 minutos. Tras la finalización (TLC, MeOH al 10 % en DCM y CLEM), el catalizador se retiró por filtración (filtro de teflón con punta de jeringuilla, 0,45  $\mu\text{m}$ ). El filtrado se concentró por evaporación rotatoria y se secó brevemente a alto vacío para proporcionar el compuesto 153 (0,33 g, cuantitativo). La CLEM fue consecuente con el producto deseado.

El compuesto 153 (0,33 g, 0,18 mmol) se disolvió en DMF anhidra (5 ml) con agitación bajo nitrógeno. A esto se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (65  $\mu$ l, 0,37 mmol) y PFP-TFA (35  $\mu$ l, 0,28 mmol). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno durante ~ 30 min. La mezcla de reacción se volvió fucsia tras el contacto y gradualmente se volvió naranja. El pH de la mezcla de reacción se mantuvo a pH = 9-10 añadiendo más *N,N*-diisopropiletilamina. El progreso de la reacción se siguió por TLC y CLEM. Tras la finalización, la mayoría del disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 ml), y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado, seguido de salmuera. La capa orgánica se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró hasta un jarabe naranja. El residuo se purificó por cromatografía en columna y se eluyó con MeOH al 2-10 % en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  para proporcionar el compuesto 154 (0,29 g, 79 %). CLEM y RMN de  $^1\text{H}$  fueron consecuentes con el producto deseado.



El compuesto oligomérico 155, que comprende un grupo conjugado de  $\text{GalNAc}_3$ -6, se preparó usando los procedimientos generales ilustrados en el ejemplo 46. La porción de agrupación de  $\text{GalNAc}_3$  del grupo conjugado de  $\text{GalNAc}_3$ -6 ( $\text{GalNAc}_3$ -6a) se puede combinar con cualquier resto escindible para proporcionar una variedad de grupos conjugados. En determinados modos de realización, el resto escindible es  $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{A}_d-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ .

La estructura de  $\text{GalNAc}_3$ -6 ( $\text{GalNAc}_3$ -6a-CM-) se muestra a continuación:



#### Ejemplo 56: estudio dependiente de la dosis de oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado en 3' o 5' (comparación de $\text{GalNAc}_3$ -1, 2, 3, 5, 6, 7 y 10) dirigidos a SRB-1 *in vivo*

Los oligonucleótidos enumerados a continuación se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido de SRB-1 en ratones. Se incluyó ISIS 353382 no conjugado como estándar. Cada uno de los diversos grupos conjugados de  $\text{GalNAc}_3$  se unió al extremo 5' del respectivo oligonucleótido por un nucleósido 2'-desoxiadenosina enlazado a fosfodiéster (resto escindible) excepto ISIS 655861 que tenía el grupo conjugado de  $\text{GalNAc}_3$  unido al extremo 3'.

**Tabla 42**

#### ASO modificado dirigido a SRB-1

ASO	Secuencia (5' a 3')	Motivo	Conjugado	SEQ ID NO.
ISIS 353382 (original)	$\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	5/10/5	no conjugado	829

ASO	Secuencia (5' a 3')	Motivo	Conjugado	SEQ ID NO.
ISIS 655861	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} A_{do}^o$ -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>	5/10/5	GalNAc <sub>3</sub> -1	830
ISIS 664507	GalNAc <sub>3</sub> -2 <sub>a</sub> - $o^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc <sub>3</sub> -2	831
ISIS 661161	GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> - $o^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc <sub>3</sub> -3	831
ISIS 666224	GalNAc <sub>3</sub> -5 <sub>a</sub> - $o^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc <sub>3</sub> -5	831
ISIS 666961	GalNAc <sub>3</sub> -6 <sub>a</sub> - $o^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc <sub>3</sub> -6	831
ISIS 666981	GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> - $o^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc <sub>3</sub> -7	831
ISIS 666881	GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> - $o^o A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc <sub>3</sub> -10	831

Las letras mayúsculas indican la nucleobase para cada nucleósido y <sup>m</sup>C indica una 5-metil-citosina. Subíndices: "e" indica un nucleósido 2'-MOE modificado; "d" indica un β-D-2'-desoxirribonucleósido; "s" indica un enlace internucleosídico (PS) fosforotioato; "o" indica un enlace internucleosídico fosfodiéster (PO); y "o" indica -O-P(=O)(OH)-. Los grupos conjugados están en negrita.

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 9. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-2<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 37. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 39. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-5<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 49. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-6<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 51. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 48. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 46.

### Tratamiento

A ratones Balb/c macho de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) se les inyectó por vía subcutánea una vez a la dosificación mostrada a continuación ISIS 353382, 655861, 664507, 661161, 666224, 666961, 666981, 666881 o solución salina. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la administración final para determinar los niveles de ARNm de SRB-1 hepáticos usando PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar. Los resultados a continuación se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de ARNm de SRB-1 para cada grupo de tratamiento, normalizados al control de solución salina.

Como se ilustra en la tabla 43, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo los niveles de ARNm de SRB-1 de manera dependiente de la dosis. De hecho, los oligonucleótidos antisentido conjugados mostraron una mejora sustancial en la potencia en comparación con el oligonucleótido antisentido no conjugado (ISIS 353382). Los oligonucleótidos antisentido conjugados en 5' mostraron un ligero incremento en la potencia en comparación con los oligonucleótidos antisentido conjugados en 3'.

**Tabla 43**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	SRB-1 ARNm (% solución salina)	Conjugado
Solución salina	np	100,0	

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	SRB-1 ARNm (% solución salina)	Conjugado
353382	3	96,0	ninguno
	10	73,1	
	30	36,1	
655861	0,5	99,4	<b>GalNac<sub>3</sub>-1 (3')</b>
	1,5	81,2	
	5	33,9	
	15	15,2	
664507	0,5	102,0	<b>GalNac<sub>3</sub>-2 (5')</b>
	1,5	73,2	
	5	31,3	
	15	10,8	
661161	0,5	90,7	<b>GalNac<sub>3</sub>-3 (5')</b>
	1,5	67,6	
	5	24,3	
	15	11,5	
666224	0,5	96,1	<b>GalNac<sub>3</sub>-5 (5')</b>
	1,5	61,6	
	5	25,6	
	15	11,7	
666961	0,5	85,5	<b>GalNac<sub>3</sub>-6 (5')</b>
	1,5	56,3	
	5	34,2	
	15	13,1	
666981	0,5	84,7	<b>GalNac<sub>3</sub>-7 (5')</b>
	1,5	59,9	
	5	24,9	
	15	8,5	
666881	0,5	100,0	<b>GalNac<sub>3</sub>-10 (5')</b>
	1,5	65,8	
	5	26,0	
	15	13,0	

Los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), en suero, se midieron en relación con ratones inyectados con solución salina usando protocolos estándar. También se evaluaron la bilirrubina total y BUN (nitrógeno ureico sanguíneo). El cambio en los pesos corporales se evaluó sin cambios significativos con el grupo de solución salina. Los valores de ALT, AST, bilirrubina total y BUN se muestran en la tabla 44 a continuación.

Tabla 44

N.º ISIS	Dosificación mg/kg	ALT	AST	Bilirrubina total	BUN	Conjugado
Solución salina		26	57	0,2	27	
353382	3	25	92	0,2	27	ninguno
	10	23	40	0,2	25	
	30	29	54	0,1	28	

N.º ISIS	Dosificación mg/kg	ALT	AST	Bilirrubina total	BUN	Conjugado
655861	0,5	25	71	0,2	34	GalNac <sub>3</sub> -1 (3')
	1,5	28	60	0,2	26	
	5	26	63	0,2	28	
	15	25	61	0,2	28	
664507	0,5	25	62	0,2	25	GalNac <sub>3</sub> -2 (5')
	1,5	24	49	0,2	26	
	5	21	50	0,2	26	
	15	59	84	0,1	22	
661161	0,5	20	42	0,2	29	GalNac <sub>3</sub> -3 (5')
	1,5 g	37	74	0,2	25	
	5 g	28	61	0,2	29	
	15	21	41	0,2	25	
666224	0,5	34	48	0,2	21	GalNac <sub>3</sub> -5 (5')
	1,5	23	46	0,2	26	
	5	24	47	0,2	23	
	15	32	49	0,1	26	
666961	0,5	17	63	0,2	26	GalNac <sub>3</sub> -6 (5')
	1,5	23	68	0,2	26	
	5	25	66	0,2	26	
	15	29	107	0,2	28	
666981	0,5	24	48	0,2	26	GalNac <sub>3</sub> -7 (5')
	1,5	30	55	0,2	24	
	5	46	74	0,1	24	
	15	29	58	0,1	26	
666881	0,5	20	65	0,2	27	GalNac <sub>3</sub> -10 (5')
	1,5	23	59	0,2	24	
	5	45	70	0,2	26	
	15	21	57	0,2	24	

#### Ejemplo 60: efectos de ASO conjugados dirigidos a SRB-1 *in vitro*

Los oligonucleótidos enumerados a continuación se sometieron a prueba en un estudio de dosis múltiples para determinar la inhibición antisentido de SRB-1 en hepatocitos primarios de ratón. ISIS 353382 se incluyó como estándar no conjugado. Cada uno de los grupos conjugados se unió al extremo 3' o 5' del respectivo oligonucleótido por un resto escindible de nucleósido 2'-desoxiadenosina enlazado a fosfodiéster.

**Tabla 52**

#### ASO modificado dirigido a SRB-1

ASO	Secuencia (5' a 3')	Motivo	Conjugado	SEQ ID NO.
ISIS 353382	G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>c</sub>	5/10/5	ninguno	829
ISIS 655861	G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNac <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>	5/10/5	GalNac <sub>3</sub> -1	830
ISIS 655862	G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNac <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>	5/10/5	GalNac <sub>3</sub> -1	830

ASO	Secuencia (5' a 3')	Motivo	Conjugado	SEQ ID NO.
ISIS 661161	<b>GalNac<sub>3</sub>-3a-o'</b> <sup>m</sup> A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	5/10/5	<b>GalNac<sub>3</sub>-3</b>	831
ISIS 665001	<b>GalNac<sub>3</sub>-8a-o'</b> <sup>m</sup> A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	5/10/5	<b>GalNac<sub>3</sub>-8</b>	831
ISIS 664078	<sup>m</sup> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> <b>-GalNac<sub>3</sub>-9a</b>	5/10/5	<b>GalNac<sub>3</sub>-9</b>	830
ISIS 666961	<b>GalNac<sub>3</sub>-6a-o'</b> <sup>m</sup> A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	5/10/5	<b>GalNac<sub>3</sub>-6</b>	831
ISIS 664507	<b>GalNac<sub>3</sub>-2a-</b> <sup>m</sup> A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	5/10/5	<b>GalNac<sub>3</sub>-2</b>	831
ISIS 666881	<b>GalNac<sub>3</sub>-10a-</b> <sup>m</sup> A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	5/10/5	<b>GalNac<sub>3</sub>-10</b>	831
ISIS 666224	<b>GalNac<sub>3</sub>-5a-</b> <sup>m</sup> A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	5/10/5	<b>GalNac<sub>3</sub>-5</b>	831
ISIS 666981	<b>GalNac<sub>3</sub>-7a-</b> <sup>m</sup> A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	5/10/5	<b>GalNac<sub>3</sub>-7</b>	831

Las letras mayúsculas indican la nucleobase para cada nucleósido y <sup>m</sup>C indica una 5-metil-citosina. Subíndices: "e" indica un nucleósido 2'-MOE modificado; "d" indica un β-D-2'-desoxirribonucleósido; "s" indica un enlace internucleosídico (PS) fosforotioato; "o" indica un enlace internucleosídico fosfodiéster (PO); y "o'" indica -O-P(=O)(OH)-. Los grupos conjugados están en negrita.

La estructura de GalNac<sub>3</sub>-1a se mostró previamente en el ejemplo 9. La estructura de GalNac<sub>3</sub>-3a se mostró previamente en el ejemplo 39. La estructura de GalNac<sub>3</sub>-8a se mostró previamente en el ejemplo 47. La estructura de GalNac<sub>3</sub>-9a se mostró previamente en el ejemplo 52. La estructura de GalNac<sub>3</sub>-6a se mostró previamente en el ejemplo 51. La estructura de GalNac<sub>3</sub>-2a se mostró previamente en el ejemplo 37. La estructura de GalNac<sub>3</sub>-10a se mostró previamente en el ejemplo 46. La estructura de GalNac<sub>3</sub>-5a se mostró previamente en el ejemplo 49. La estructura de GalNac<sub>3</sub>-7a se mostró previamente en el ejemplo 48.

### Tratamiento

Los oligonucleótidos enumerados anteriormente se sometieron a prueba *in vitro* en hepatocitos primarios de ratón preparados a una densidad de 25.000 células por pocillo y se trataron con 0,03, 0,08, 0,24, 0,74, 2,22, 6,67 o 20 nM de oligonucleótido modificado. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm por PCR ultrarrápida cuantitativa y se ajustaron los niveles de ARNm de SRB-1 de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®.

La CI<sub>50</sub> se calculó usando procedimientos estándar y los resultados se presentan en la tabla 53. Los resultados muestran que, en condiciones de captación libre en las que no se usan reactivos ni técnicas de electroporación para promover artificialmente la entrada de los oligonucleótidos en las células, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNac fueron significativamente más potentes en hepatocitos que el oligonucleótido original (ISIS 353382) que no comprende un conjugado de GalNac.

**Tabla 53**

ASO	CI <sub>50</sub> (nM)	Enlaces internucleosídicos	Conjugado	SEQ ID NO.
ISIS 353382	190 <sup>a</sup>	PS	ninguno	829



ASO	Cl <sub>50</sub> (nM)	Enlaces internucleosídicos	Conjugado	SEQ ID NO.
ISIS 655861	11 <sup>a</sup>	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-1</b>	830
ISIS 655862	3	PO/PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-1</b>	830
ISIS 661161	15 <sup>a</sup>	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-3</b>	831
ISIS 665001	20	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-8</b>	831
ISIS 664078	55	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-9</b>	830
ISIS 666961	22 <sup>a</sup>	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-6</b>	831
ISIS 664507	30	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-2</b>	831
ISIS 666881	30	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-10</b>	831
ISIS 666224	30 <sup>a</sup>	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-5</b>	831
ISIS 666981	40	PS	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7</b>	831

<sup>a</sup>Promedio de múltiples ciclos.

**Ejemplo 79: duración de la acción *in vivo* de oligonucleótidos dirigidos a APOC-III que comprenden un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>**

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 70 a continuación se sometieron a prueba en un estudio de dosis única para determinar la duración de la acción en ratones.

**Tabla 70**

**ASO modificados dirigidos a APOC-III**

ISIS N.º	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
304801	A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>c</sub>	np	np	821
647535	A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>c</sub> o-A <sub>do</sub> <sup>o</sup> -GalNAc <sub>3</sub> -1a	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>	822
663083	GalNAc <sub>3</sub> -3a <sup>o</sup> -A <sub>do</sub> A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>c</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>	837
674449	GalNAc <sub>3</sub> -7a <sup>o</sup> -A <sub>do</sub> A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>c</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -7a	A <sub>d</sub>	837
674450	GalNAc <sub>3</sub> -10a <sup>o</sup> -A <sub>do</sub> A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>c</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -10a	A <sub>d</sub>	837
674451	GalNAc <sub>3</sub> -13a <sup>o</sup> -A <sub>do</sub> A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>c</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -13a	A <sub>d</sub>	837

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-1a se mostró previamente en el ejemplo 9, GalNAc<sub>3</sub>-3a se mostró en el ejemplo 39, GalNAc<sub>3</sub>-7a se mostró en el ejemplo 48, GalNAc<sub>3</sub>-10a se mostró en el ejemplo 46, y GalNAc<sub>3</sub>-13a se mostró en el

ejemplo 62.

### Tratamiento

- 5 A ratones transgénicos de seis a ocho semanas de edad que expresan APOC-III humana se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez un oligonucleótido enumerado en la tabla 70 o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 3 animales. Se extrajo sangre antes de la dosificación para determinar el valor de referencia y a las 72 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas y 6 semanas después de la dosis. Los niveles de proteína APOC-III y triglicéridos en plasma se midieron como se describe en el ejemplo 20. Los resultados a
- 10 continuación se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de triglicéridos y APOC-III en plasma para cada grupo de tratamiento, normalizados a niveles de referencia, mostrando que los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc presentaron una mayor duración de la acción que el oligonucleótido original sin un grupo conjugado (ISIS 304801) aunque la dosificación del original fue tres veces la dosificación de los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc.

15

**Tabla 71**

### Niveles de proteína APOC-III y triglicéridos en plasma en ratones transgénicos

ISIS N.º	Dosificación (mg/kg)	Punto temporal (días después de la dosis)	Triglicéridos (% referencia)	APOC-III proteína (% referencia)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM
PBS	np	3	97	102	np	np
		7	101	98		
		14	108	98		
		21	107	107		
		28	94	91		
		35	88	90		
		42	91	105		
3048 01	30	3	40	34	np	np
		7	41	37		
		14	50	57		
		21	50	50		
		28	57	73		
		35	68	70		
		42	75	93		
6475 35	10	3	36	37	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>
		7	39	47		
		14	40	45		
		21	41	41		
		28	42	62		
		35	69	69		
		42	85	102		
6630 83	10	3	24	18	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>
		7	28	23		
		14	25	27		
		21	28	28		
		28	37	44		
		35	55	57		
		42	60	78		
6744	10	3	29	26	GalNAc <sub>3</sub> -7a	A <sub>d</sub>

ISIS N.º	Dosificación (mg/kg)	Punto temporal (días después de la dosis)	Triglicéridos (% referencia)	APOC-III proteína (% referencia)	Agrupación de GalNac <sub>3</sub>	CM
49		7	32	31		
		14	38	41		
		21	44	44		
		28	53	63		
		35	69	77		
		42	78	99		
6744 50	10	3	33	30	GalNac <sub>3</sub> -10a	Ad
		7	35	34		
		14	31	34		
		21	44	44		
		28	56	61		
		35	68	70		
6744 51	10	42	83	95		
		3	35	33	GalNac <sub>3</sub> -13a	Ad
		7	24	32		
		14	40	34		
		21	48	48		
		28	54	67		
		35	65	75		
		42	74	97		

**Ejemplo 80: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a alfa-1 antitripsina (A1AT) que comprenden un conjugado de GalNac<sub>3</sub>**

- 5 Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 72 a continuación se sometieron a prueba en un estudio para determinar la inhibición dependiente de la dosis de A1AT en ratones.

**Tabla 72**

10 **ASO modificados dirigidos a A1AT**

ISIS N.º	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNac <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
476366	A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> A <sub>cs</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>e</sub>	np	np	838
656326	A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> A <sub>cs</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> -GalNac <sub>3</sub> -1a	GalNac <sub>3</sub> -1a	Ad	839
678381	GalNac <sub>3</sub> -3a-o'-A <sub>ds</sub> A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> A <sub>cs</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>e</sub>	GalNac <sub>3</sub> -3a	Ad	840
678382	GalNac <sub>3</sub> -7a-o'-A <sub>ds</sub> A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> A <sub>cs</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>e</sub>	GalNac <sub>3</sub> -7a	Ad	840
678383	GalNac <sub>3</sub> -10a-o'-A <sub>ds</sub> A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> A <sub>cs</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>e</sub>	GalNac <sub>3</sub> -10a	Ad	840
678384	GalNac <sub>3</sub> -13a-o'-A <sub>ds</sub> A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> A <sub>cs</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>e</sub>	GalNac <sub>3</sub> -13a	Ad	840

La estructura de GalNac<sub>3</sub>-1a se mostró previamente en el ejemplo 9, GalNac<sub>3</sub>-3a se mostró en el ejemplo 39,

GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 48, GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 46, y GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 62.

### Tratamiento

A ratones C57BL/6 macho de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez por semana a una dosificación mostrada a continuación, para un total de tres dosis, un oligonucleótido enumerado en la tabla 72 o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la administración final. Los niveles de ARNm hepático de A1AT se determinaron usando PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar. Los niveles de proteína en plasma de A1AT se determinaron usando el ELISA de alfa 1-antitripsina de ratón (n.º de catálogo 41-A1AMS-E01, Alpco, Salem, NH). Los resultados a continuación se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de proteína en plasma y ARNm hepático de A1AT para cada grupo de tratamiento, normalizados al control de PBS.

Como se ilustra en la tabla 73, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo los niveles de proteína en plasma de A1AT y ARNm hepático de A1AT de manera dependiente de la dosis. Los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc fueron significativamente más potentes que el original (ISIS 476366).

**Tabla 73**

#### Niveles de proteína en plasma y ARNm hepático de A1AT

ISIS N.º	Dosificación (mg/kg)	ARNm hepático de A1AT (% PBS)	Proteína en plasma A1AT (% PBS)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM
PBS	np	100	100	np	np
476366	5	86	78	np	np
	15	73	61		
	45	30	38		
656326	0,6	99	90	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>
	2	61	70		
	6	15	30		
	18	6	10		
678381	0,6	105	90	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>
	2	53	60		
	6	16	20		
	18	7	13		
678382	0,6	90	79	GalNAc <sub>3</sub> -7a	A <sub>d</sub>
	2	49	57		
	6	21	27		
	18	8	11		
678383	0,6	94	84	GalNAc <sub>3</sub> -10a	A <sub>d</sub>
	2	44	53		
	6	13	24		
	18	6	10		
678384	0,6	106	91	GalNAc <sub>3</sub> -13a	A <sub>d</sub>
	2	65	59		
	6	26	31		
	18	11	15		

Los niveles de transaminasa hepática y BUN en plasma se midieron en el momento del sacrificio usando protocolos estándar. También se midieron los pesos corporales y pesos de órganos. Los resultados se muestran en la tabla 74 a continuación. El peso corporal se muestra como % relativo al valor de referencia. Los pesos de órganos se muestran como % de peso corporal en relación con el grupo de control de PBS.

Tabla 74

ISIS N.º	Dosificación (mg/kg)	ALT (U/l)	AST (U/l)	BUN (mg/dl)	Peso corporal (% referencia)	Peso del hígado (% rel. PC)	Peso del riñón (% rel. PC)	Peso del bazo (% rel. PC)
PBS	np	25	51	37	119	100	100	100
476366	5	34	68	35	116	91	98	106
	15	37	74	30	122	92	101	128
	45	30	47	31	118	99	108	123
656326	0,6	29	57	40	123	100	103	119
	2	36	75	39	114	98	111	106
	6	32	67	39	125	99	97	122
	18	46	77	36	116	102	109	101
678381	0,6	26	57	32	117	93	109	110
	2	26	52	33	121	96	106	125
	6	40	78	32	124	92	106	126
	18	31	54	28	118	94	103	120
678382	0,6	26	42	35	114	100	103	103
	2	25	50	31	117	91	104	117
	6	30	79	29	117	89	102	107
	18	65	112	31	120	89	104	113
678383	0,6	30	67	38	121	91	100	123
	2	33	53	33	118	98	102	121
	6	32	63	32	117	97	105	105
	18	36	68	31	118	99	103	108
678384	0,6	36	63	31	118	98	103	98
	2	32	61	32	119	93	102	114
	6	34	69	34	122	100	100	96
	18	28	54	30	117	98	101	104

**Ejemplo 81: duración de la acción *in vivo* de oligonucleótidos dirigidos a A1AT que comprenden una agrupación de GalNAc<sub>3</sub>**

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 72 se sometieron a prueba en un estudio de dosis única para determinar la duración de la acción en ratones.

**Tratamiento**

A ratones C57BL/6 macho de seis semanas de edad se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez un oligonucleótido enumerado en la tabla 72 o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Se extrajo sangre el día antes de la dosificación para determinar el valor de referencia y a los 5, 12, 19 y 25 días después de la dosis. Los niveles de proteína A1AT en plasma se midieron por medio de ELISA (véase el ejemplo 80). Los resultados a continuación se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de proteína A1AT en plasma para cada grupo de tratamiento, normalizados a niveles de referencia. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc fueron más potentes y tuvieron una mayor duración de la acción que el original que carece de un conjugado de GalNAc (ISIS 476366). Además, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de 5'-GalNAc (ISIS 678381, 678382, 678383 y 678384) fueron en general aún más potentes con una duración de la acción aún mayor que el oligonucleótido que comprende un conjugado de 3'-GalNAc (ISIS 656326).

Tabla 75

## Niveles de proteína A1AT en plasma en ratones

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	Punto temporal (días después de la dosis)	A1AT (% referencia)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM
		5	93		
PBS	np	12	93	np	np
		19	90		
		25	97		
		5	38		
476366	100	12	46	np	np
		19	62		
		25	77		
		5	33		
656326	18	12	36	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>
		19	51		
		25	72		
		5	21		
678381	18	12	21	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>
		19	35		
		25	48		
		5	21		
678382	18	12	21	GalNAc <sub>3</sub> -7a	A <sub>d</sub>
		19	39		
		25	60		
		5	24		
678383	18	12	21	GalNAc <sub>3</sub> -10a	A <sub>d</sub>
		19	45		
		25	73		
		5	29		
678384	18	12	34	GalNAc <sub>3</sub> -13a	A <sub>d</sub>
		19	57		
		25	76		
		5	29		

5

**Ejemplo 82: inhibición antisentido *in vitro* por oligonucleótidos dirigidos a SRB-1 que comprenden un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>**

Se prepararon hepatocitos primarios de hígado de ratón en placas de 96 pocillos a 15.000 células/pocillo 2 horas antes del tratamiento. Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 76 se añadieron a 2, 10, 50 o 250 nM en medio Williams E y las células se incubaron durante la noche a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. Las células se lisaron 16 horas después de la adición del oligonucleótido y el ARN total se purificó usando RNease 3000 BioRobot (Qiagen). Los niveles de ARNm de SRB-1 se determinaron usando PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar. Los valores de CI<sub>50</sub> se determinaron usando el programa informático Prism 4 (GraphPad). Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden una variedad de diferentes grupos conjugados de GalNAc y una variedad de diferentes restos escindibles son significativamente más potentes en un experimento de captación libre *in vitro* que los oligonucleótidos originales que carecen de un grupo conjugado de GalNAc (ISIS 353382 y 666841).

Tabla 76

Inhibición de la expresión de SRB-1 *in vitro*

N.º ISIS	Secuencia (5' a 3')	Enlaces	Agrupación de GalNAc	CM	CI <sub>50</sub> (nM)	SEQ ID NO.
353382	G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PS	np	np	250	829

N.º ISIS	Secuencia (5' a 3')	Enlaces	Agrupación de GalNAc	CM	Cl <sub>50</sub> (nM)	SEQ ID NO.
655861	G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> A <sup>do</sup> <sub>es</sub> '- <b>GalNAc3-1a</b>	PS	GalNAc3-1a	A <sub>d</sub>	40	830
661161	<b>GalNAc3-3a-</b> o'A <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-3a	A <sub>d</sub>	40	831
661162	<b>GalNAc3-3a-</b> o'A <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>eo</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>eo</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PO/PS	GalNAc3-3a	A <sub>d</sub>	8	831
664078	G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> A <sup>do</sup> <sub>es</sub> '- <b>GalNAc3-9a</b>	PS	GalNAc3-9a	A <sub>d</sub>	20	830
665001	<b>GalNAc3-8a-</b> o'A <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> - A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-8a	A <sub>d</sub>	70	831
666224	<b>GalNAc3-5a-</b> o'A <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-5a	A <sub>d</sub>	80	831
666841	G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>eo</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PO/PS	np	np	>250	829
666881	<b>GalNAc3-10a-</b> o'A <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-10a	A <sub>d</sub>	30	831
666904	<b>GalNAc3-3a-</b> o'G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> - A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-3a	PO	9	829
666924	<b>GalNAc3-3a-</b> o'T <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-3a	T <sub>d</sub>	15	834
666961	<b>GalNAc3-6a-</b> o'A <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-6a	A <sub>d</sub>	150	831
666981	<b>GalNAc3-7a-</b> o'A <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-7a	A <sub>d</sub>	20	831
670061	<b>GalNAc3-13a-</b> o'A <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PS	GalNAc3-13a	A <sub>d</sub>	30	831
670699	<b>GalNAc3-3a-</b> o'T <sup>do</sup> <sub>es</sub> G <sup>es</sup> <sub>es</sub> mC <sup>eo</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>eo</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> G <sup>ds</sup> <sub>es</sub> A <sup>ds</sup> <sub>es</sub> mC <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>ds</sup> <sub>es</sub> T <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>eo</sup> <sub>es</sub> mC <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>es</sup> <sub>es</sub> T <sup>e</sup> <sub>es</sub>	PO/PS	GalNAc3-3a	T <sub>d</sub>	15	834

N.º ISIS	Secuencia (5' a 3')	Enlaces	Agrupación de GalNAc	CM	Cl <sub>50</sub> (nM)	SEQ ID NO.
670700	<b>GalNAc3-3a-</b> o'A <sub>eo</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T	PO/PS	GalNAc3-3a	A <sub>e</sub>	30	831
670701	<b>GalNAc3-3a-</b> o'T <sub>eo</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PO/PS	GalNAc3-3a	T <sub>e</sub>	25	834
671144	<b>GalNAc3-12a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PS	GalNAc3-12a	A <sub>d</sub>	40	831
671165	<b>GalNAc3-13a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T	PO/PS	GalNAc3-13a	A <sub>d</sub>	8	831
671261	<b>GalNAc3-14a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PS	GalNAc3-14a	A <sub>d</sub>	>250	831
671262	<b>GalNAc3-15a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PS	GalNAc3-15a	A <sub>d</sub>	>250	831
673501	<b>GalNAc3-7a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PO/PS	GalNAc3-7a	A <sub>d</sub>	30	831
673502	<b>GalNAc3-10a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PO/PS	GalNAc3-10a	A <sub>d</sub>	8	831
675441	<b>GalNAc3-17a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PS	GalNAc3-17a	A <sub>d</sub>	30	831
675442	<b>GalNAc3-18a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PS	GalNAc3-18a	A <sub>d</sub>	20	831
677841	G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '- <b>GalNAc3-19a</b>	PS	GalNAc3-19a	A <sub>d</sub>	40	830
677842	G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '- <b>GalNAc3-20a</b>	PS	GalNAc3-20a	A <sub>d</sub>	30	830
677843	<b>GalNAc3-23a-</b> o'A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>	PS	GalNAc3-23a	A <sub>d</sub>	40	831



La estructura de GalNac<sub>3</sub>-1<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 9, GalNac<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 39, GalNac<sub>3</sub>-5<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 49, GalNac<sub>3</sub>-6<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 51, GalNac<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 48, GalNac<sub>3</sub>-8<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 47, GalNac<sub>3</sub>-9<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 52, GalNac<sub>3</sub>-10<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 46, GalNac<sub>3</sub>-12<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 61, GalNac<sub>3</sub>-13<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 62, GalNac<sub>3</sub>-14<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 63, GalNac<sub>3</sub>-15<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 64, GalNac<sub>3</sub>-17<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 68, GalNac<sub>3</sub>-18<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 69, GalNac<sub>3</sub>-19<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 70, GalNac<sub>3</sub>-20<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 71 y GalNac<sub>3</sub>-23<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 76.

### Ejemplo 83: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos al factor XI que comprenden una agrupación de GalNac<sub>3</sub>

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 77 a continuación se sometieron a prueba en un estudio para determinar la inhibición dependiente de la dosis de factor XI en ratones.

**Tabla 77**

#### Oligonucleótidos modificados dirigidos al factor XI

N.º ISIS	Secuencia (5' a 3')	Agrupación de GalNac	CM	SEQ ID NO.
404071	T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>	np	np	832
656173	T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '- GalNac <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>	GalNac <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>	A <sub>d</sub>	833
663086	o'A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub> GalNac <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -	GalNac <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>	A <sub>d</sub>	841
678347	o'A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub> GalNac <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -	GalNac <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub>	A <sub>d</sub>	841
678348	o'A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub> GalNac <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> -	GalNac <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub>	A <sub>d</sub>	841
678349	o'A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub> GalNac <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> -	GalNac <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub>	A <sub>d</sub>	841

La estructura de GalNac<sub>3</sub>-1<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 9, GalNac<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 39, GalNac<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 48, GalNac<sub>3</sub>-10<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 46, y GalNac<sub>3</sub>-13<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 62.

#### Tratamiento

A ratones de seis a ocho semanas de edad se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez por semana en una dosificación mostrada a continuación, para un total de tres dosis, un oligonucleótido enumerado a continuación o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la dosis final. Los niveles de ARNm hepático de factor XI se midieron usando PCR ultrarrápida y se normalizaron a ciclofilina de acuerdo con protocolos estándar. También se midieron transaminasas hepáticas, BUN y bilirrubina. Los resultados a continuación se presentan como el promedio del porcentaje para cada grupo de tratamiento, normalizados al control de PBS.

Como se ilustra en la tabla 78, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo el ARNm hepático de factor XI de manera dependiente de la dosis. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNac fueron más potentes que el original que carece de un conjugado de GalNac (ISIS 404071). Además, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de 5'-GalNac (ISIS 663086, 678347, 678348 y 678349) fueron incluso más potentes que el oligonucleótido que comprende un conjugado de 3'-GalNac (ISIS

656173).

**Tabla 78****5 Niveles de ARNm hepático de factor XI, transaminasa hepática, BUN y bilirrubina**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de factor XI (% PBS)	ALT (U/l)	AST (U/l)	BUN (mg/dl)	Bilirrubina (mg/dl)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	SEQ ID NO.
PBS	np	100	63	70	21	0,18	np	np
404071	3	65	41	58	21	0,15	np	832
	10	33	49	53	23	0,15		
	30	17	43	57	22	0,14		
	0,7	43	90	89	21	0,16		
656173	2	9	36	58	26	0,17	GalNAc <sub>3</sub> -1a	833
	6	3	50	63	25	0,15		
	0,7	33	91	169	25	0,16		
663086	2	7	38	55	21	0,16	GalNAc <sub>3</sub> -3a	841
	6	1	34	40	23	0,14		
	0,7	35	28	49	20	0,14		
678347	2	10	180	149	21	0,18	GalNAc <sub>3</sub> -7a	841
	6	1	44	76	19	0,15		
	0,7	39	43	54	21	0,16		
678348	2	5	38	55	22	0,17	GalNAc <sub>3</sub> -10a	841
	6	2	25	38	20	0,14		
	0,7	34	39	46	20	0,16		
678349	2	8	43	63	21	0,14	GalNAc <sub>3</sub> -13a	841
	6	2	28	41	20	0,14		
	0,7	34	39	46	20	0,16		

**Ejemplo 84: duración de la acción *in vivo* de oligonucleótidos dirigidos al factor XI que comprenden un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>**

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 77 se sometieron a prueba en un estudio de dosis única para determinar la duración de la acción en ratones.

**Tratamiento**

A ratones de seis a ocho semanas de edad se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez un oligonucleótido enumerado en la tabla 77 o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Se extrajo sangre por extracciones en la cola el día antes de la dosificación para determinar el valor de referencia y a los 3, 10 y 17 días después de la dosis. Los niveles de proteína factor XI en plasma se midieron por ELISA usando anticuerpos de detección biotinilados y de captura del factor XI de R & D Systems, Minneapolis, MN (n.º de catálogo AF2460 y n.º BAF2460, respectivamente) y el juego de reactivos OptEIA B (n.º de catálogo 550534, BD Biosciences, San José, CA). Los resultados a continuación se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de proteína factor XI en plasma para cada grupo de tratamiento, normalizados a niveles de referencia. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc fueron más potentes y con mayor duración de la acción que el original que carece de un conjugado de GalNAc (ISIS 404071). Además, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de 5'-GalNAc (ISIS 663086, 678347, 678348 y 678349) fueron aún más potentes con una duración de la acción aún mayor que el oligonucleótido que comprende un conjugado de 3'-GalNAc (ISIS 656173).

**Tabla 79****Niveles de proteína factor XI en plasma en ratones**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	Punto temporal (días después de la dosis)	Factor XI (% referencia)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
PBS	np	3	123	np	np	np
		10	56			
		17	100			
404071	30	3	11	np	np	832
		10	47			
		17	52			
656173	6	3	1	GalNAc <sub>3</sub> -1a	Ad	833

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	Punto temporal (días después de la dosis)	Factor XI (% referencia)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
		10	3			
		17	21			
663086	6	3	1	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>	841
		10	2			
		17	9			
678347	6	3	1	GalNAc <sub>3</sub> -7a	A <sub>d</sub>	841
		10	1			
		17	8			
678348	6	3	1	GalNAc <sub>3</sub> -10a	A <sub>d</sub>	841
		10	1			
		17	6			
678349	6	3	1	GalNAc <sub>3</sub> -13a	A <sub>d</sub>	841
		10	1			
		17	5			

**Ejemplo 85: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a SRB-1 que comprenden un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>**

- 5 Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 76 se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido de SRB-1 en ratones.

**Tratamiento**

- 10 A ratones C57BL/6 de seis a ocho semanas de edad se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez por semana a una dosificación mostrada a continuación, para un total de tres dosis, un oligonucleótido enumerado en la tabla 76 o solución salina. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la administración final para determinar los niveles de ARNm de SRB-1 usando PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con
- 15 protocolos estándar. Los resultados a continuación se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de ARNm de SRB-1 hepáticos para cada grupo de tratamiento, normalizados al control de solución salina.

Como se ilustra en las tablas 80 y 81, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo los niveles de ARNm de SRB-1 de manera dependiente de la dosis.

20

**Tabla 80**

**ARNm de SRB-1 en hígado**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (% solución salina)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM
Solución salina	np	100	np	np
655861	0,1	94	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>
	0,3	119		
	1	68		
	3	32		
661161	0,1	120	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>
	0,3	107		
	1	68		
	3	26		
666881	0,1	107	GalNAc <sub>3</sub> -10a	A <sub>d</sub>
	0,3	107		
	1	69		
	3	27		
666981	0,1	120	GalNAc <sub>3</sub> -7a	A <sub>d</sub>
	0,3	103		
	1	54		
	3	21		
670061	0,1	118	GalNAc <sub>3</sub> -13a	A <sub>d</sub>
	0,3	89		
	1	52		
	3	18		
677842	0,1	119	GalNAc <sub>3</sub> -20a	A <sub>d</sub>

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (% solución salina)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM
	0,3	96		
	1	65		
	3	23		

**Tabla 81****ARNm de SRB-1 en hígado**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (% solución salina)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM
661161	0,1	107	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>
	0,3	95		
	1	53		
	3	18		
677841	0,1	110	GalNAc <sub>3</sub> -19a	A <sub>d</sub>
	0,3	88		
	1	52		
	3	25		

También se midieron los niveles de transaminasas hepáticas, bilirrubina total, BUN y pesos corporales usando protocolos estándar. Los valores promedio para cada grupo de tratamiento se muestran en la tabla 82 a continuación.

**Tabla 82**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ALT (U/l)	AST (U/l)	Bilirrubina (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Peso corporal (% referencia)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM
Solución salina	np	19	39	0,17	26	118	np	np
655861	0,1	25	47	0,17	27	114	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>
	0,3	29	56	0,15	27	118		
	1	20	32	0,14	24	112		
	3	27	54	0,14	24	115		
661161	0,1	35	83	0,13	24	113	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>
	0,3	42	61	0,15	23	117		
	1	34	60	0,18	22	116		
	3	29	52	0,13	25	117		
666881	0,1	30	51	0,15	23	118	GalNAc <sub>3</sub> -10a	A <sub>d</sub>
	0,3	49	82	0,16	25	119		
	1	23	45	0,14	24	117		
	3	20	38	0,15	21	112		
666981	0,1	21	41	0,14	22	113	GalNAc <sub>3</sub> -7a	A <sub>d</sub>
	0,3	29	49	0,16	24	112		
	1	19	34	0,15	22	111		
	3	77	78	0,18	25	115		
670061	0,1	20	63	0,18	24	111	GalNAc <sub>3</sub> -13a	A <sub>d</sub>
	0,3	20	57	0,15	21	115		
	1	20	35	0,14	20	115		
	3	27	42	0,12	20	116		
677842	0,1	20	38	0,17	24	114	GalNAc <sub>3</sub> -20a	A <sub>d</sub>
	0,3	31	46	0,17	21	117		
	1	22	34	0,15	21	119		
	3	41	57	0,14	23	118		

**Ejemplo 86: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a TTR que comprenden una agrupación de GalNAc<sub>3</sub>**

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 83 a continuación se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido de la transtiretina humana (TTR) en ratones transgénicos que expresan el gen TTR humano.

## Tratamiento

A ratones transgénicos TTR de ocho semanas de edad se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez por semana durante tres semanas, para un total de tres dosis, un oligonucleótido y la dosificación enumerados en las tablas a continuación o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la administración final. Se realizaron extracciones en la cola en diversos puntos temporales a lo largo del experimento, y se midieron los niveles de ALT, AST y proteína TTR en plasma y se informó en las tablas 85-87. Después de que se sacrificaran los animales, se midieron los niveles de ALT, AST y TTR humana en plasma, así como peso corporal, pesos de órganos y niveles de ARNm de TTR humana hepáticos. Los niveles de proteína TTR se midieron usando un analizador clínico (AU480, Beckman Coulter, CA). Se usaron PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar para determinar los niveles de ARNm de TTR humana en hígado. Los resultados presentados en las tablas 84-87 son los valores medios para cada grupo de tratamiento. Los niveles de ARNm son los valores promedio relativos al promedio para el grupo PBS. Los niveles de proteína en plasma son los valores promedio en relación con el valor promedio para el grupo de PBS al inicio del estudio. Los pesos corporales son el promedio del cambio de porcentaje en peso del valor de referencia hasta el sacrificio para cada grupo de tratamiento individual. Los pesos de órgano mostrados se normalizan al peso corporal del animal, y a continuación se presenta el promedio del peso de órgano normalizado para cada grupo de tratamiento en relación con el promedio del peso de órgano normalizado para el grupo de PBS.

En las tablas 84-87, "BL" indica el valor de referencia, las mediciones que se tomaron justo antes de la primera dosis. Como se ilustra en las tablas 84 y 85, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo los niveles de expresión de TTR de manera dependiente de la dosis. Los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc fueron más potentes que el original que carece de un conjugado de GalNAc (ISIS 420915). Además, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc y enlaces internucleosídicos PS/PO mixtos fueron incluso más potentes que el oligonucleótido que comprende un conjugado de GalNAc y enlaces PS totales.

**Tabla 83**

### Oligonucleótidos dirigidos a TTR humana

N.º ISIS	Secuencia 5' a 3'	Enlaces	Agrupación de GalNAc	CM	SEQ ID NO.
420915	T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS	np	np	842
660261	T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '- <b>GalNAc3-1a</b>	PS	GalNAc3-1a	Ad	843
682883	<b>GalNAc3-3a-</b> o',T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc3-3a	PO	842
682884	<b>GalNAc3-7a-</b> o',T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc3-7a	PO	842
682885	<b>GalNAc3-10a-</b> o',T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc3-10a	PO	842
682886	<b>GalNAc3-13a-</b> o',T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc3-13a	PO	842
684057	T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>d</sub> sA <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '- <b>GalNAc3-19a</b>	PS/PO	GalNAc3-19a	Ad	843

La leyenda para la tabla 85 se puede encontrar en el ejemplo 74. La estructura de GalNAc3-1 se mostró en el ejemplo 9. La estructura de GalNAc3-3a se mostró en el ejemplo 39. La estructura de GalNAc3-7a se mostró en el ejemplo 48. La estructura de GalNAc3-10a se mostró en el ejemplo 46. La estructura de GalNAc3-13a se mostró en el ejemplo 62. La estructura de GalNAc3-19a se mostró en el ejemplo 70.

**Tabla 84****Inhibición antisentido de TTR humana *in vivo***

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de TTR (% PBS)	Proteína TTR en plasma (% PBS)	Agrupación de GalNAc	CM	SEQ ID NO.
PBS	np	100	100	np	np	
420915	6	99	95	np	np	842
	20	48	65			
	60	18	28			
660261	0,6	113	87	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>	843
	2	40	56			
660261	6	20	27	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>	843
660261	20	9	11	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>	843

**Tabla 85****Inhibición antisentido de TTR humana *in vivo***

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de TTR (% PBS)	Proteína TTR en plasma (% PBS al inicio)				Agrupación de GalNAc	CM	SEQ ID NO.
			BL	Día 3	Día 10	Día 17 (después de sac.)			
PBS	np	100	100	96	90	114	np	np	
420915	6	74	106	86	76	83	np	np	842
	20	43	102	66	61	58			
	60	24	92	43	29	32			
682883	0,6	60	88	73	63	68	GalNAc <sub>3</sub> -3a	PO	842
	2	18	75	38	23	23			
	6	10	80	35	11	9			
682884	0,6	56	88	78	63	67	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	842
	2	19	76	44	25	23			
	6	15	82	35	21	24			
682885	0,6	60	92	77	68	76	GalNAc <sub>3</sub> -10a	PO	842
	2	22	93	58	32	32			
	6	17	85	37	25	20			
682886	0,6	57	91	70	64	69	GalNAc <sub>3</sub> -13a	PO	842
	2	21	89	50	31	30			
	6	18	102	41	24	27			
684057	0,6	53	80	69	56	62	GalNAc <sub>3</sub> -19a	A <sub>d</sub>	843
	2	21	92	55	34	30			
	6	11	82	50	18	13			

**Tabla 86****Niveles de transaminasas, cambios en peso corporal y pesos de órganos relativos**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ALT (U/l)				AST (U/l)				Cuerpo (% BL)	Hígado (% PBS)	Bazo (% PBS)	Riñón (% PBS)	SEQ ID NO.
		BL	Día 3	Día 10	Día 17	BL	Día 3	Día 10	Día 17					
PBS	np	33	34	33	24	58	62	67	52	105	100	100	100	np
420915	6	34	33	27	21	64	59	73	47	115	99	89	91	842
	20	34	30	28	19	64	54	56	42	111	97	83	89	
	60	34	35	31	24	61	58	71	58	113	102	98	95	
660261	0,6	33	38	28	26	70	71	63	59	111	96	99	92	843
	2	29	32	31	34	61	60	68	61	118	100	92	90	
	6	29	29	28	34	58	59	70	90	114	99	97	95	
	20	33	32	28	33	64	54	68	95	114	101	106	92	

Tabla 87

## Niveles de transaminasas, cambios en peso corporal y pesos de órganos relativos

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ALT (U/l)				AST (U/l)				Cuerpo (% BL)	Hígado (% PBS)	Bazo (% PBS)	Riñón (% PBS)	SEQ ID NO.
		BL	Día 3	Día 10	Día 17	BL	Día 3	Día 10	Día 17					
PBS	np	32	34	37	41	62	78	76	77	104	100	100	100	np
420915	6	32	30	34	34	61	71	72	66	102	103	102	105	842
	20	41	34	37	33	80	76	63	54	106	107	135	101	
	60	36	30	32	34	58	81	57	60	106	105	104	99	
682883	0,6	32	35	38	40	53	81	74	76	104	101	112	95	842
	2	38	39	42	43	71	84	70	77	107	98	116	99	
	6	35	35	41	38	62	79	103	65	105	103	143	97	
682884	0,6	33	32	35	34	70	74	75	67	101	100	130	99	842
	2	31	32	38	38	63	77	66	55	104	103	122	100	
	6	38	32	36	34	65	85	80	62	99	105	129	95	
682885	0,6	39	26	37	35	63	63	77	59	100	109	109	112	842
	2	30	26	38	40	54	56	71	72	102	98	111	102	
	6	27	27	34	35	46	52	56	64	102	98	113	96	
682886	0,6	30	40	34	36	58	87	54	61	104	99	120	101	842
	2	27	26	34	36	51	55	55	69	103	91	105	92	
	6	40	28	34	37	107	54	61	69	109	100	102	99	
684057	0,6	35	26	33	39	56	51	51	69	104	99	110	102	843
	2	33	32	31	40	54	57	56	87	103	100	112	97	
	6	39	33	35	40	67	52	55	92	98	104	121	108	

**Ejemplo 88: modulación de empalme *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a SMN que comprenden un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>**

- 5 Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 90 se sometieron a prueba para determinar la modulación de empalme de la supervivencia de la neurona motora (SMN) humana en ratones.

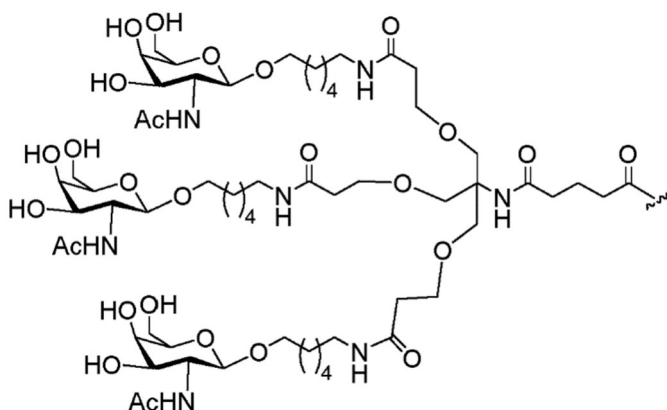
Tabla 90

## 10 ASO modificados dirigidos a SMN

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
387954	A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>	np	np	844
699819	GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-0</sub> , A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>e</sub> G <sub>e</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> T <sub>e</sub> G <sub>e</sub> G <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub>	PO	844
699821	GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-0</sub> , A <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub>	PO	844
700000	A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>	A <sub>d</sub>	845
703421	X-ATT <sup>m</sup> CA <sup>m</sup> CTTT <sup>m</sup> CATAATG <sup>m</sup> CTGG	np	np	844
703422	GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>b</sub> -X-ATT <sup>m</sup> CA <sup>m</sup> CTTT <sup>m</sup> CATAATG <sup>m</sup> CTGG	GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>b</sub>	np	844

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 48. "X" indica una amina primaria 5' generada por Gene Tools (Philomath, OR), y GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>b</sub> indica la estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> que carece de la porción -NH-C<sub>6</sub>-O del conector como se muestra a continuación:

15



Los números ISIS 703421 y 703422 son oligonucleótidos de morfolino, en los que cada nucleótido de los dos oligonucleótidos es un nucleótido de morfolino.

#### Tratamiento

A ratones transgénicos de seis semanas de edad que expresan SMN humana se les inyectó por vía subcutánea una vez un oligonucleótido enumerado en la tabla 91 o solución salina. Cada grupo de tratamiento consistió en 2 machos y 2 hembras. Los ratones se sacrificaron 3 días después de la dosis para determinar los niveles de ARNm de SMN humana hepáticos tanto con como sin el exón 7 usando PCR ultrarrápida de acuerdo con protocolos estándar. El ARN total se midió usando el reactivo Ribogreen. Los niveles de ARNm de SMN se normalizaron a ARNm total y se normalizaron además a los promedios para el grupo de tratamiento con solución salina. El promedio de proporciones resultantes de ARNm de SMN que incluye el exón 7 con respecto al ARNm de SMN que carece del exón 7 se muestran en la tabla 91. Los resultados muestran que los oligonucleótidos totalmente modificados que modulan el empalme y comprenden un conjugado de GalNAc son significativamente más potentes para alterar el empalme en el hígado que los oligonucleótidos originales que carecen de un conjugado de GalNAc. Además, esta tendencia se mantiene para múltiples químicas de modificación, incluyendo los oligonucleótidos 2'-MOE y morfolino modificados.

**Tabla 91**

#### Efecto de oligonucleótidos dirigidos a SMN humana *in vivo*

N.º ISIS	Dosis (mg/kg)	+Exón 7 / -Exón 7	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
Solución salina	np	1,00	np	np	np
387954	32	1,65	np	np	844
387954	288	5,00	np	np	844
699819	32	7,84	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	844
699821	32	7,22	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	844
700000	32	6,91	GalNAc <sub>3</sub> -1a	A <sub>d</sub>	845
703421	32	1,27	np	np	844
703422	32	4,12	GalNAc <sub>3</sub> -7b	np	844

#### Ejemplo 89: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a apolipoproteína A (Apo(a)) que comprenden un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 92 a continuación se sometieron a prueba en un estudio para determinar la inhibición dependiente de la dosis de Apo(a) en ratones transgénicos.



Tabla 92

## ASO modificados dirigidos a Apo(a)

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
494372	$T_{25}G_{25}^{m}C_{25}T_{25}^{m}C_{25}^{m}C_{25}^{m}C_{25}^{m}G_{25}T_{25}T_{25}G_{25}G_{25}T_{25}G_{25}^{m}C_{25}$ $T_{25}T_{25}G_{25}T_{25}T_{25}^{m}C_{25}$	np	np	847
681257	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>-0'</b> $T_{25}G_{25}^{m}C_{25}T_{25}^{m}C_{25}^{m}C_{25}^{m}C_{25}^{m}G_{25}T_{25}T_{25}G_{25}G_{25}$ $T_{25}G_{25}^{m}C_{25}T_{25}T_{25}G_{25}T_{25}T_{25}^{m}C_{25}$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	847

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 48.

## Tratamiento

A ratones C57BL/6 hembra de ocho semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez por semana en una dosificación mostrada a continuación, para un total de seis dosis, un oligonucleótido enumerado en la tabla 92 o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 3-4 animales. Se realizaron extracciones en la cola el día antes de la primera dosis y semanalmente después de cada dosis para determinar los niveles de proteína Apo(a) en plasma. Los ratones se sacrificaron dos días después de la administración final. Los niveles de ARNm hepático de Apo(a) se determinaron usando PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar. Se determinaron los niveles de proteína en plasma de Apo(a) usando ELISA y se determinaron los niveles de transaminasas hepáticas. Los resultados de proteína en plasma y ARNm en la tabla 93 se presentan como el promedio del porcentaje del grupo de tratamiento en relación con el grupo tratado con PBS. Los niveles de proteína en plasma se normalizaron además al valor de referencia (BL) para el grupo de PBS. Se informa del promedio absoluto de niveles de transaminasas y los pesos corporales (% en relación con los promedios de referencia) en la tabla 94.

Como se ilustra en la tabla 93, el tratamiento con los oligonucleótidos redujo los niveles de proteína en plasma y ARNm hepático de Apo(a) de manera dependiente de la dosis. Además, el oligonucleótido que comprende el conjugado de GalNAc fue significativamente más potente con una mayor duración de la acción que el oligonucleótido original que carece de un conjugado de GalNAc. Como se ilustra en la tabla 94, los niveles de transaminasas y los pesos corporales no se vieron afectados por los oligonucleótidos, lo que indica que los oligonucleótidos se toleraron bien.

Tabla 93

## Niveles de proteína en plasma y ARNm hepático de Apo(a)

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de Apo(a) (% PBS)	Proteína en plasma Apo(a) (% PBS)						
			BL	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
PBS	np	100	100	120	119	113	88	121	97
494372	3	80	84	89	91	98	87	87	79
	10	30	87	72	76	71	57	59	46
	30	5	92	54	28	10	7	9	7
681257	0,3	75	79	76	89	98	71	94	78
	1	19	79	88	66	60	54	32	24
	3	2	82	52	17	7	4	6	5
	10	2	79	17	6	3	2	4	5

Tabla 94

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ALT (U/l)	AST (U/l)	Peso corporal (% referencia)
PBS	np	37	54	103
494372	3	28	68	106
	10	22	55	102
	30	19	48	103
681257	0,3	30	80	104
	1	26	47	105
	3	29	62	102
	10	21	52	107

**Ejemplo 90: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a TTR que comprenden una agrupación de GalNAc<sub>3</sub>**

- 5 Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 95 a continuación se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido de la transtiretina humana (TTR) en ratones transgénicos que expresan el gen TTR humano.

**Tratamiento**

- 10 A ratones transgénicos TTR se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez por semana durante tres semanas, para un total de tres dosis, un oligonucleótido y la dosificación enumerados en la tabla 96 o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Antes de la primera dosis, se realizó una extracción en la cola para determinar los niveles de proteína TTR en plasma al inicio del estudio (BL). Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la administración final. Los niveles de proteína TTR se midieron usando un analizador clínico (AU480, Beckman Coulter, CA). Se usaron PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) de acuerdo con protocolos estándar para determinar los niveles de ARNm de TTR humana en hígado. Los resultados presentados en la tabla 96 son los valores promedio para cada grupo de tratamiento. Los niveles de ARNm son los valores promedio relativos al promedio para el grupo PBS. Los niveles de proteína en plasma son los valores promedio en relación con el valor promedio para el grupo de PBS al inicio del estudio. "BL" indica el valor de referencia, las mediciones que se tomaron justo antes de la primera dosis. Como se ilustra en la tabla 96, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo los niveles de expresión de TTR de manera dependiente de la dosis. Los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc fueron más potentes que el original que carece de un conjugado de GalNAc (ISIS 420915), y los oligonucleótidos que comprenden un resto escindible de fosfodiéster o desoxiadenosina mostraron mejoras significativas en la potencia en comparación con el original que carece de un conjugado (véanse los números ISIS 682883 y 666943 frente a 420915 y véanse los ejemplos 86 y 87).

**Tabla 95****Oligonucleótidos dirigidos a TTR humana**

N.º ISIS	Secuencia 5' a 3'	Enlaces	Agrupación de GalNAc	CM	SEQ ID NO.
420915	T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS	np	np	842
682883	GalNAc <sub>3</sub> -3a- o <sup>+</sup> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc <sub>3</sub> -3a	PO	842
666943	GalNAc <sub>3</sub> -3a- o <sup>+</sup> A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc <sub>3</sub> -3a	A <sub>d</sub>	846
682887	GalNAc <sub>3</sub> -7a- u <sup>+</sup> A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc <sub>3</sub> -7a	A <sub>d</sub>	846
682888	GalNAc <sub>3</sub> -10a- u <sup>+</sup> A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc <sub>3</sub> -10a	A <sub>d</sub>	846
682889	GalNAc <sub>3</sub> -13a- u <sup>+</sup> A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	PS/PO	GalNAc <sub>3</sub> -13a	A <sub>d</sub>	846

- 35 La leyenda para la tabla 95 se puede encontrar en el ejemplo 74. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-3a se mostró en el ejemplo 39. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7a se mostró en el ejemplo 48. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-10a se mostró en el ejemplo 46. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-13a se mostró en el ejemplo 62.

Tabla 96

Inhibición antisentido de TTR humana *in vivo*

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de TTR (% PBS)	Proteína TTR (% BL)	Agrupación de GalNAc	CM
PBS	np	100	124	np	np
420915	6	69	114	np	np
	20	71	86		
	60	21	36		
682883	0,6	61	73	GalNAc <sub>3</sub> -3a	PO
	2	23	36		
	6	18	23		
666943	0,6	74	93	GalNAc <sub>3</sub> -3a	Ad
	2	33	57		
	6	17	22		
682887	0,6	60	97	GalNAc <sub>3</sub> -7a	Ad
	2	36	49		
	6	12	19		
682888	0,6	65	92	GalNAc <sub>3</sub> -10a	Ad
	2	32	46		
	6	17	22		
682889	0,6	72	74	GalNAc <sub>3</sub> -13a	Ad
	2	38	45		
	6	16	18		

Ejemplo 92: inhibición antisentido en hepatocitos primarios por oligonucleótidos antisentido dirigidos a Apo-CIII que comprenden un conjugado de GalNAc<sub>3</sub>

Se prepararon hepatocitos primarios de ratón en placas de 96 pocillos a 15.000 células por pocillo, y se añadieron los oligonucleótidos enumerados en la tabla 99, dirigidos a ApoC-III de ratón, a 0,46, 1,37, 4,12 o 12,35, 37,04, 111,11 o 333,33 nM o 1,00 µM. Después de la incubación con los oligonucleótidos durante 24 horas, las células se lisaron y el ARN total se purificó usando RNeasy (Qiagen). Los niveles de ARNm de ApoC-III se determinaron usando PCR ultrarrápida y reactivo de cuantificación de ARN RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc.) de acuerdo con protocolos estándar. Los valores de Cl<sub>50</sub> se determinaron usando el programa informático Prism 4 (GraphPad). Los resultados muestran que independientemente de si el resto escindible fue un fosfodiéster o una desoxiadenosina enlazada a fosfodiéster, los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc fueron significativamente más potentes que el oligonucleótido original que carece de un conjugado.

Tabla 99

## Inhibición de la expresión de APOC-III de ratón en hepatocitos primarios de ratón

N.º ISIS	Secuencia (5' a 3')	CM	Cl <sub>50</sub> (nM)	SEQ ID NO.
440670	<sup>14</sup> CesAesGes <sup>m</sup> CesT <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>14</sup> CesAesGes <sup>14</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub>	np	13,20	849
661180	<sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1a	Ad	1,40	850
680771	<sup>0</sup> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub> GalNAc <sub>3</sub> -3a-	PO	0,70	849
680772	<sup>0</sup> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub> GalNAc <sub>3</sub> -7a-	PO	1,70	849
680773	<sup>0</sup> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub> GalNAc <sub>3</sub> -10a-	PO	2,00	849
680774	<sup>0</sup> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub> GalNAc <sub>3</sub> -13a-	PO	1,50	849

N.º ISIS	Secuencia (5' a 3')	CM	Cl <sub>50</sub> (nM)	SEQ ID NO.
681272	<b>GalNAc<sub>3</sub>-3a-</b> $o'{}^mC_{es}A_{co}G_{co}{}^mC_{co}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{co}$ $A_{co}G_{es}{}^mC_{es}A_e$	PO	< 0,46	849
681273	<b>GalNAc<sub>3</sub>-3a-</b> $o'A_{do}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}$ ${}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}A_e$	A <sub>d</sub>	1,10	851
683733	${}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{es}$ $A_{es}G_{es}{}^mC_{es}A_{co}A_{do}'\text{-GalNAc}_3\text{-19a}$	A <sub>d</sub>	2,50	850

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-1a se mostró previamente en el ejemplo 9, GalNAc<sub>3</sub>-3a se mostró en el ejemplo 39, GalNAc<sub>3</sub>-7a se mostró en el ejemplo 48, GalNAc<sub>3</sub>-10a se mostró en el ejemplo 46, GalNAc<sub>3</sub>-13a se mostró en el ejemplo 62 y GalNAc<sub>3</sub>-19a se mostró en el ejemplo 70.

#### Ejemplo 93: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a SRB-1 que comprenden alas mixtas y un conjugado de 5'-GalNAc<sub>3</sub>

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 100 se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido de SRB-1 en ratones.

**Tabla 100**

#### ASO modificados dirigidos a SRB-1

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
449093	$T_{ks}T_{ks}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^mC_{ks}{}^mC_k$	np	np	852
699806	<b>GalNAc<sub>3</sub>-3a-o'</b> $T_{ks}T_{ks}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{ks}{}^mC_{ks}{}^mC_k$	GalNAc <sub>3</sub> -3a	PO	852
699807	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7a-o'</b> $T_{ks}T_{ks}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{ks}{}^mC_{ks}{}^mC_k$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	852
699809	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7a-o'</b> $T_{ks}T_{ks}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{es}{}^mC_{es}{}^mC_e$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	852
699811	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7a-o'</b> $T_{es}T_{es}{}^mC_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{ks}{}^mC_{ks}{}^mC_k$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	852
699813	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7a-o'</b> $T_{ks}T_{ds}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{ks}{}^mC_{ds}{}^mC_k$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	852
699815	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7a-o'</b> $T_{es}T_{ks}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{ks}{}^mC_{ks}{}^mC_c$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	852

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-3a se mostró previamente en el ejemplo 39, y la estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7a se mostró previamente en el ejemplo 48. Subíndices: "e" indica nucleósido 2'-MOE modificado; "d" indica β-D-2'-desoxirribonucleósido; "k" indica nucleósido bicíclico 6'-(S)-CH<sub>3</sub> (cEt); "s" indica enlaces internucleosídicos fosforotioato (PS); "o" indica enlaces internucleosídicos fosfodiéster (PO). El superíndice "m" indica 5-metilcitosinas.

#### Tratamiento

A ratones C57BL/6 de seis a ocho semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) se les inyectó por vía subcutánea una vez a la dosificación mostrada a continuación un oligonucleótido enumerado en la tabla 100 o solución salina. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la administración final. Los niveles de ARNm de SRB-1 hepáticos se midieron usando PCR ultrarrápida. Los

niveles de ARNm de SRB-1 se normalizaron a niveles de ARNm de ciclofilina de acuerdo con protocolos estándar. Los resultados se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de ARNm de SRB-1 para cada grupo de tratamiento en relación con el grupo de control de solución salina. Como se ilustra en la tabla 101, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido redujo los niveles de ARNm de SRB-1 de manera dependiente de la dosis, y los oligonucleótidos gápmers que comprenden un conjugado de GalNAc y que tienen alas que eran modificaciones glucídicas de cEt completas o mixtas fueron significativamente más potentes que el oligonucleótido original que carece de un conjugado y que comprende alas modificadas de cEt completas.

También se midieron los pesos corporales, transaminasas hepáticas, bilirrubina total y BUN, y los valores promedio para cada grupo de tratamiento se muestran en la tabla 101. El peso corporal se muestra como el promedio del porcentaje de peso corporal en relación con el peso corporal de referencia (% BL) medido justo antes de la dosis de oligonucleótido.

**Tabla 101**

**Niveles de ARNm de SRB-1, ALT, AST, BUN y bilirrubina total y pesos corporales**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (% PBS)	ALT (U/l)	AST (U/l)	Bil	BUN	Peso corporal (% BL)
PBS	np	100	31	84	0,15	28	102
449093	1	111	18	48	0,17	31	104
	3	94	20	43	0,15	26	103
	10	36	19	50	0,12	29	104
699806	0,1	114	23	58	0,13	26	107
	0,3	59	21	45	0,12	27	108
	1	25	30	61	0,12	30	104
699807	0,1	121	19	41	0,14	25	100
	0,3	73	23	56	0,13	26	105
	1	24	22	69	0,14	25	102
699809	0,1	125	23	57	0,14	26	104
	0,3	70	20	49	0,10	25	105
	1	33	34	62	0,17	25	107
699811	0,1	123	48	77	0,14	24	106
	0,3	94	20	45	0,13	25	101
	1	66	57	104	0,14	24	107
699813	0,1	95	20	58	0,13	28	104
	0,3	98	22	61	0,17	28	105
	1	49	19	47	0,11	27	106
699815	0,1	93	30	79	0,17	25	105
	0,3	64	30	61	0,12	26	105
	1	24	18	41	0,14	25	106

**Ejemplo 94: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a SRB-1 que comprenden modificaciones glucídicas en 2' y un conjugado de 5'-GalNAc3**

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 102 se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido de SRB-1 en ratones.

**Tabla 102**

**ASO modificados dirigidos a SRB-1**

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
353382	G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub>	np	np	829
700989	G <sub>irs</sub> C <sub>irs</sub> U <sub>irs</sub> U <sub>irs</sub> U <sub>irs</sub> C <sub>irs</sub> A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> U <sub>irs</sub> C <sub>irs</sub> C <sub>irs</sub> U <sub>irs</sub> U <sub>irs</sub>	np	np	853
666904	GalNAc <sub>3</sub> -3a-o'-G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> A <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -3a	PO	829

700991	<b>GalNAC<sub>3</sub>-7<sub>a-o'</sub></b> $G_{ms}C_{ms}U_{ms}U_{ms}C_{ms}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}$ $A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}U_{ms}C_{ms}C_{ms}U_{ms}U_{ms}$	GalNAC <sub>3</sub> -7a	PO	853
--------	---	-------------------------	----	-----

El subíndice "m" indica un nucleósido 2'-O-metil modificado. Véase el ejemplo 74 para la leyenda de la tabla completa. La estructura de GalNAC<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 39, y la estructura de GalNAC<sub>3</sub>-7a se mostró previamente en el ejemplo 48.

### Tratamiento

El estudio se completó usando el protocolo descrito en el ejemplo 93. Los resultados se muestran en la tabla 103 a continuación y muestran que los oligonucleótidos tanto 2'-MOE como 2'-OMe modificados que comprenden un conjugado de GalNAC fueron significativamente más potentes que los respectivos oligonucleótidos originales que carecen de un conjugado. Los resultados de los pesos corporales, mediciones de transaminasas hepáticas, bilirrubina total y BUN indicaron que todos los compuestos se toleraron bien.

**Tabla 103**

### ARNm de SRB-1

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (% PBS)
PBS	np	100
353382	5	116
	15	58
	45	27
700989	5	120
	15	92
	45	46
666904	1	98
	3	45
	10	17
700991	1	118
	3	63
	10	14

### Ejemplo 95: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a SRB-1 que comprenden nucleósidos bicíclicos y un conjugado de 5'-GalNAC<sub>3</sub>

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 104 se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido de SRB-1 en ratones.

**Tabla 104**

### ASO modificados dirigidos a SRB-1

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAC <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO
440762	$T_{ks}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^mC_k$	np	np	823
666905	<b>GalNAC<sub>3</sub>-3<sub>a-o'</sub></b> $T_{ks}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^mC_k$	GalNAC <sub>3</sub> -3a	PO	823
699782	<b>GalNAC<sub>3</sub>-7<sub>a-o'</sub></b> $T_{ks}{}^mC_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^mC_k$	GalNAC <sub>3</sub> -7a	PO	823
699783	<b>GalNAC<sub>3</sub>-3<sub>a-o'</sub></b> $T_{ls}{}^mC_{ls}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ls}{}^mC_l$	GalNAC <sub>3</sub> -3a	PO	823
653621	$T_{ls}{}^mC_{ls}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ls}{}^mC_l$ <b>Ado'-GalNAC<sub>3</sub>-1<sub>a</sub></b>	GalNAC <sub>3</sub> -1a	Ad	824
439879	$T_{gs}{}^nC_{gs}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^nC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{gs}{}^mC_g$	np	np	823
699789	<b>GalNAC<sub>3</sub>-3<sub>a-o'</sub></b> $T_{gs}{}^nC_{gs}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^nC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{gs}{}^mC_g$	GalNAC <sub>3</sub> -3a	PO	823

El subíndice "g" indica un nucleósido fluoro-HNA, el subíndice "l" indica un nucleósido bloqueado que comprende un puente 2'-O-CH<sub>2</sub>-4'. Véase la leyenda de la tabla del ejemplo 74 para otras abreviaturas. La estructura de GalNAC<sub>3</sub>-1<sub>a</sub> se mostró previamente en el ejemplo 9, la estructura de GalNAC<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> se mostró previamente en el

ejemplo 39, y la estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7a se mostró previamente en el ejemplo 48.

#### Tratamiento

El estudio se completó usando el protocolo descrito en el ejemplo 93. Los resultados se muestran en la tabla 105 a continuación y muestran que los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc y diversas modificaciones nucleosídicas bicíclicas fueron significativamente más potentes que el oligonucleótido original que carece de un conjugado y comprende modificaciones nucleosídicas bicíclicas. Además, el oligonucleótido que comprende un conjugado de GalNAc y modificaciones fluoro-HNA fue significativamente más potente que el original que carece de un conjugado y que comprende modificaciones fluoro-HNA. Los resultados de los pesos corporales, mediciones de transaminasas hepáticas, bilirrubina total y BUN indicaron que todos los compuestos se toleraron bien.

**Tabla 105**

**Niveles de ARNm de SRB-1, ALT, AST, BUN y bilirrubina total y pesos corporales**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	ARNm de SRB-1 (% PBS)
PBS	np	100
440762	1	104
	3	65
	10	35
666905	0,1	105
	0,3	56
	1	18
699782	0,1	93
	0,3	63
	1	15
699783	0,1	105
	0,3	53
	1	12
653621	0,1	109
	0,3	82
	1	27
439879	1	96
	3	77
	10	37
699789	0,1	82
	0,3	69
	1	26

#### **Ejemplo 96: unión a proteína en plasma de oligonucleótidos antisentido que comprenden un grupo conjugado de GalNAc<sub>3</sub>**

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 70 dirigidos a ApoC-III y los oligonucleótidos en la tabla 106 dirigidos a Apo(a) se sometieron a prueba en un ensayo de ultrafiltración para evaluar la unión a proteína en plasma.

Tabla 106

## Oligonucleótidos modificados dirigidos a Apo(a)

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO
494372	$T_{cs}G_{cs}^mC_{cs}T_{cs}^mC_{cs}^mT_{cs}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{cs}G_{cs}T_{cs}$ $T_{cs}^mC_e$	np	np	847
693401	$T_{cs}G_{co}^mC_{co}T_{co}^mC_{co}^mC_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{co}G_{co}T_{cs}$ $T_{cs}^mC_e$	np	np	847
681251	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7a-o'</b> $T_{cs}G_{cs}^mC_{cs}T_{cs}^mC_{cs}^mC_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{cs}G_{cs}T_{cs}T_{cs}^mC_e$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	847
681257	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7a-o'</b> $T_{cs}G_{co}^mC_{co}T_{co}^mC_{co}^mC_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{cs}G_{cs}T_{cs}T_{cs}^mC_e$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	847

Véase el ejemplo 74 para la leyenda de la tabla. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7a se mostró previamente en el ejemplo 48.

- 5 Las unidades de ultrafiltración Ultrafree-MC (30.000 NMWL, membrana de celulosa regenerada de baja unión, Millipore, Bedford, MA) se preacondicionaron con 300 µl de Tween 80 al 0,5 % y se centrifugó a 2000 g durante 10 minutos, a continuación con 300 µl de una solución de 300 µg/ml de un oligonucleótido control en H<sub>2</sub>O y se centrifugó a 2000 g durante 16 minutos. Para evaluar la unión inespecífica a los filtros de cada oligonucleótido de prueba de las tablas 70 y 106 que se van a usar en los estudios, se colocaron 300 µl de una solución de 250 ng/ml de oligonucleótido en H<sub>2</sub>O a pH 7,4 en los filtros preacondicionados y se centrifugó a 2000 g durante 16 minutos. Las muestras sin filtrar y filtradas se analizaron por un ensayo ELISA para determinar las concentraciones de oligonucleótidos. Se usaron tres duplicados para obtener un promedio de concentración para cada muestra. El promedio de concentración de la muestra filtrada en relación con la muestra sin filtrar se usa para determinar el porcentaje de oligonucleótido que se recupera a través del filtro en ausencia de plasma (% recuperación).
- 15 Las muestras de plasma completo congelado obtenidas en K3-EDTA de voluntarios humanos normales, libres de fármacos, macacos cangrejeros y ratones CD-1, se adquirieron de Bioreclamation LLC (Westbury, NY). Los oligonucleótidos de prueba se añadieron a alícuotas de 1,2 ml de plasma en dos concentraciones (5 y 150 µg/ml). Se dispuso una alícuota (300 µl) de cada muestra de plasma enriquecida en una unidad de filtro preacondicionada y se incubó a 37 °C durante 30 minutos, seguido de inmediato de centrifugación a 2000 g durante 16 minutos. Se analizaron alícuotas de muestras de plasma enriquecido filtradas y sin filtrar por un ELISA para determinar la concentración de oligonucleótido en cada muestra. Se usaron tres duplicados por concentración para determinar el promedio del porcentaje de oligonucleótido unido y no unido en cada muestra. El promedio de concentración de la muestra filtrada en relación con la concentración de la muestra sin filtrar se usa para determinar el porcentaje de oligonucleótido en el plasma que no se une a proteínas en plasma (% no unido). Los valores de oligonucleótidos no unidos finales se corrigen para la unión inespecífica dividiendo el % no unido entre el % de recuperación para cada oligonucleótido. Los valores de % de oligonucleótido unido final se determina restando a 100 los valores de % no unido final. Los resultados se muestran en la tabla 107 para las dos concentraciones de oligonucleótido sometidas a prueba (5 y 150 µg/ml) en cada especie de plasma. Los resultados muestran que los grupos conjugados de GalNAc no tienen un impacto significativo en la unión a proteína en plasma. Además, los oligonucleótidos con enlaces internucleosídicos PS totales y enlaces PO/PS mixtos se unen ambos a proteínas en plasma, y aquellos con enlaces PS totales se unen a proteínas en plasma en un grado algo mayor que aquellos con enlaces PO/PS mixtos.

Tabla 107

## Porcentaje de oligonucleótido modificado unido a proteínas en plasma

N.º ISIS	Plasma humano		Plasma de macaco		Plasma de ratón	
	5 µg/ml	150 µg/ml	5 µg/ml	150 µg/ml	5 µg/ml	150 µg/ml
304801	99,2	98,0	99,8	99,5	98,1	97,2
663083	97,8	90,9	99,3	99,3	96,5	93,0
674450	96,2	97,0	98,6	94,4	94,6	89,3
494372	94,1	89,3	98,9	97,5	97,2	93,6
693401	93,6	89,9	96,7	92,0	94,6	90,2
681251	95,4	93,9	99,1	98,2	97,8	96,1
681257	93,4	90,5	97,6	93,7	95,6	92,7



**Ejemplo 97: oligonucleótidos modificados dirigidos a TTR que comprenden un grupo conjugado de GalNAc<sub>3</sub>**

- 5 Los oligonucleótidos mostrados en la tabla 108 que comprenden un conjugado de GalNAc se diseñaron para dirigirse a TTR.

**Tabla 108****10 Oligonucleótidos modificados dirigidos a TTR**

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO
666941	<b>GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a-o'</sub>-A<sub>do</sub></b> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -3	A <sub>d</sub>	846
666942	T <sub>es</sub> mC <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>eo</sub> <b>A<sub>do'</sub>-GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub></b>	GalNAc <sub>3</sub> -1	A <sub>d</sub>	843
682876	<b>GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a-o'</sub></b> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -3	PO	842
682877	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a-o'</sub></b> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -7	PO	842
682878	<b>GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a-o'</sub></b> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -10	PO	842
682879	<b>GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a-o'</sub></b> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -13	PO	842
682880	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a-o'</sub>-A<sub>do</sub></b> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -7	A <sub>d</sub>	846
682881	<b>GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a-o'</sub>-A<sub>do</sub></b> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -10	A <sub>d</sub>	846
682882	<b>GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a-o'</sub>-A<sub>do</sub></b> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -13	A <sub>d</sub>	846
684056	T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> mC <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>es</sub> mC <sub>eo</sub> <b>A<sub>do</sub>-GalNAc<sub>3</sub>-19<sub>a</sub></b>	GalNAc <sub>3</sub> -19	A <sub>d</sub>	846

La leyenda para la tabla 108 se puede encontrar en el ejemplo 74. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-1 se mostró en el ejemplo 9. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 39. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 48. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 46. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 62. La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-19<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 70.

**Ejemplo 98: evaluación de los efectos proinflamatorios de los oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc en el ensayo de hPMBC**

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 109 se sometieron a prueba para determinar los efectos proinflamatorios en un ensayo de hPMBC como se describe en los ejemplos 23 y 24. (Véanse las tablas 30, 83, 95 y 108 para las descripciones de los oligonucleótidos). ISIS 353512 es un respondedor alto usado como control positivo, y los otros oligonucleótidos se describen en las tablas 83, 95 y 108. Los resultados mostrados en la tabla 109 se obtuvieron usando sangre de un donante voluntario. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden enlaces internucleosídicos mixtos PO/PS produjeron respuestas proinflamatorias significativamente menores en comparación con los mismos oligonucleótidos que tienen enlaces PS totales. Además, el grupo conjugado de GalNAc no tuvo un efecto significativo en este ensayo.

Tabla 109

N.º ISIS	E <sub>máx</sub> /CE <sub>50</sub>	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	Enlaces	CM
353512	3630	np	PS	np
420915	802	np	PS	np
682881	1311	GalNAc <sub>3</sub> -10	PS	A <sub>d</sub>
682888	0,26	GalNAc <sub>3</sub> -10	PO/PS	A <sub>d</sub>
684057	1,03	GalNAc <sub>3</sub> -19	PO/PS	A <sub>d</sub>

#### Ejemplo 99: afinidades de unión de oligonucleótidos que comprenden un conjugado de GalNAc para el receptor de asialoglucoproteína

Las afinidades de unión de los oligonucleótidos enumerados en la tabla 110 (véase la tabla 76 para las descripciones de los oligonucleótidos) para el receptor de asialoglucoproteína se sometieron a prueba en un ensayo de unión a receptor competitivo. El ligando competidor, glucoproteína ácida  $\alpha 1$  (AGP), se incubó en tampón acetato de sodio 50 mM (pH 5) con 1 U de neuraminidasa-agarosa durante 16 horas a 37 °C, y se confirmó una desialilación > 90 % por ensayo de ácido siálico o bien cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Se usó monoclóruo de yodo para yodar la AGP de acuerdo con el procedimiento de Atsma *et al.* (véase J Lipid Res. 1991 Jan; 32(1): 173-81.) En este procedimiento, se añadió glucoproteína ácida  $\alpha 1$  desialilada (des-AGP) a cloruro de yodo 10 mM, Na<sup>125</sup>I y glicina 1 M en NaOH 0,25 M. Después de incubación durante 10 minutos a temperatura ambiente, se separó des-AGP marcada con <sup>125</sup>I del <sup>125</sup>I libre concentrando la mezcla dos veces utilizando una columna de centrifugación 3 KDMWCO. La proteína se sometió a prueba para determinar la eficacia y la pureza del marcado en un sistema de HPLC equipado con una columna Agilent SEC-3 (7,8 x 300 mm) y un contador  $\beta$ -RAM. Los experimentos de competencia utilizando des-AGP marcada con <sup>125</sup>I y diversos ASO que contenían agrupaciones de GalNAc se realizaron como sigue. Se prepararon células HepG2 humanas (10<sup>6</sup> células/ml) en placas de 6 pocillos en 2 ml de medio de crecimiento apropiado. Se usó medio MEM complementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, L-glutamina 2 mM y HEPES 10 mM. Las células se incubaron 16-20 horas a 37 °C con CO<sub>2</sub> al 5 % y al 10 % respectivamente. Las células se lavaron con medio sin FBS antes del experimento. Las células se incubaron durante 30 min a 37 °C con 1 ml de mezcla de competencia que contenía medios de crecimiento apropiados con FBS al 2 %, des-AGP marcada con <sup>125</sup>I 10<sup>-8</sup> M y ASO que contenían agrupaciones de GalNAc en concentraciones que varían de 10<sup>-11</sup> a 10<sup>-5</sup> M. La unión inespecífica se determinó en presencia de glúcido GalNAc 10<sup>-2</sup> M. Las células se lavaron dos veces con medio sin FBS para retirar des-AGP marcada con <sup>125</sup>I no unida y el competidor ASO de GalNAc. Las células se lisaron usando tampón RLT de Qiagen que contenía  $\beta$ -mercaptoetanol al 1 %. Los lisados se transfirieron a tubos de ensayo de fondo redondo después de un breve ciclo de congelación/descongelación de 10 min y se sometieron a ensayo en un contador y. La unión inespecífica se restó antes de dividir los recuentos de proteína <sup>125</sup>I entre el valor de los recuentos de concentración de GalNAc-ASO más bajos. Las curvas de inhibición se ajustaron de acuerdo con una ecuación de unión competitiva de sitio único usando un algoritmo de regresión no lineal para calcular las afinidades de unión (K<sub>D</sub>).

Los resultados en la tabla 110 se obtuvieron a partir de experimentos realizados en cinco días diferentes. Los resultados para oligonucleótidos marcados con el superíndice "a" son el promedio de los experimentos realizados en dos días diferentes. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc en el extremo 5' se unen al receptor de asialoglucoproteína en células HepG2 humanas con una afinidad de 1,5 a 16 veces mayor que los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc en el extremo 3'.

Tabla 110

#### Resultados del ensayo de unión a receptor de asialoglucoproteína

N.º ISIS	Conjugado de GalNAc	Extremo oligonucleotídico al que se une el conjugado de GalNAc	K <sub>D</sub> (nM)
661161 <sup>a</sup>	GalNAc <sub>3</sub> -3	5'	3,7
666881 <sup>a</sup>	GalNAc <sub>3</sub> -10	5'	7,6
666981	GalNAc <sub>3</sub> -7	5'	6,0
670061	GalNAc <sub>3</sub> -13	5'	7,4
655861 <sup>a</sup>	GalNAc <sub>3</sub> -1	3'	11,6
677841 <sup>a</sup>	GalNAc <sub>3</sub> -19	3'	60,8

**Ejemplo 100: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc dirigido a Apo(a) *in vivo***

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 111a a continuación se sometieron a prueba en un estudio de dosis única para determinar la duración de la acción en ratones.

**Tabla 111a****ASO modificados dirigidos a APO(a)**

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
681251	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a-o'</sub></b> T <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	847
681257	<b>GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a-o'</sub></b> T <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>co</sub> T <sub>co</sub> <sup>m</sup> C <sub>co</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>co</sub> G <sub>co</sub> T <sub>cs</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	847

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> se mostró en el ejemplo 48.

**Tratamiento**

A ratones transgénicos hembra que expresan Apo(a) humana se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez por semana, para un total de 6 dosis, un oligonucleótido y la dosificación enumerados en la tabla 111b o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 3 animales. Se extrajo sangre el día antes de la dosificación para determinar los niveles de referencia de la proteína Apo(a) en plasma y a las 72 horas, 1 semana y 2 semanas después de la primera dosis. Se realizan extracciones de sangre adicionales a las 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas y 6 semanas después de la primera dosis. Los niveles de proteína Apo(a) en plasma se midieron usando un ELISA. Los resultados en la tabla 111b se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de proteína Apo(a) en plasma para cada grupo de tratamiento, normalizados a niveles de referencia (% BL). Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc presentaron una potente reducción en la expresión de Apo(a). Este potente efecto se observó para el oligonucleótido que comprende enlaces internucleosídicos de PS completos y el oligonucleótido que comprende enlaces de PO y PS mixtos.

**Tabla 111b****Niveles de proteína en plasma de Apo(a)**

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	Apo(a) en 72 horas (% BL)	Apo(a) en 1 semana (% BL)	Apo(a) en 3 semanas (% BL)
PBS	np	116	104	107
681251	0,3	97	108	93
	1,0	85	77	57
	3,0	54	49	11
	10,0	23	15	4
681257	0,3	114	138	104
	1,0	91	98	54
	3,0	69	40	6
	10,0	30	21	4

**Ejemplo 101: inhibición antisentido por oligonucleótidos que comprenden una agrupación de GalNAc enlazada por medio de un resto estable**

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 112 se sometieron a prueba para determinar la inhibición de la expresión de APOC-III de ratón *in vivo*. A ratones C57B1/6 se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez un oligonucleótido enumerado en la tabla 112 o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Cada ratón tratado con ISIS 440670 recibió una dosis de 2, 6, 20 o 60 mg/kg. Cada ratón tratado con ISIS 680772 o 696847 recibió 0,6, 2, 6 o 20 mg/kg. El grupo conjugado de GalNAc de ISIS 696847 se enlaza por medio de un resto estable, un enlace fosforotioato en lugar de un enlace que contiene fosfodiéster fácilmente escindible. Los

animales se sacrificaron 72 horas después de la dosis. Los niveles de ARNm de APOC-III hepáticos se midieron usando PCR ultrarrápida. Los niveles de ARNm de APOC-III se normalizaron a niveles de ARNm de ciclofilina de acuerdo con protocolos estándar. Los resultados se presentan en la tabla 112 como el promedio del porcentaje de niveles de ARNm de APOC-III para cada grupo de tratamiento en relación con el grupo de control de solución salina. Los resultados muestran que los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc fueron significativamente más potentes que el oligonucleótido que carece de un grupo conjugado. Además, el oligonucleótido que comprende un grupo conjugado de GalNAc enlazado al oligonucleótido por medio de un resto escindible (ISIS 680772) fue aún más potente que el oligonucleótido que comprende un grupo conjugado de GalNAc enlazado al oligonucleótido por medio de un resto estable (ISIS 696847).

**Tabla 112**

**Oligonucleótidos modificados dirigidos a APOC-III de ratón**

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	CM	Dosificación (mg/kg)	ARNm de APOC-III (% PBS)	SEQ ID NO.
440670	${}^m\text{C}_{es}\text{A}_{es}\text{G}_{es}{}^m\text{C}_{es}\text{T}_{es}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{A}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{A}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{A}_{ds}{}^m\text{C}_{es}\text{A}_{es}\text{G}_{es}{}^m\text{C}_{es}\text{A}_{e}$	np	2	92	849
			6	86	
			20	59	
			60	37	
680772	<b>GalNAc3-7a-o'</b> ${}^m\text{C}_{es}\text{A}_{es}\text{G}_{es}{}^m\text{C}_{es}\text{T}_{es}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{A}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{A}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{A}_{ds}{}^m\text{C}_{es}\text{A}_{es}\text{G}_{es}{}^m\text{C}_{es}\text{A}_{e}$	PO	0,6	79	849
			2	58	
			6	31	
			20	13	
696847	<b>GalNAc3-7a-</b> ${}^s{}^m\text{C}_{es}\text{A}_{es}\text{G}_{es}{}^m\text{C}_{es}\text{T}_{es}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{A}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{A}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{A}_{ds}{}^m\text{C}_{es}\text{A}_{es}\text{G}_{es}{}^m\text{C}_{es}\text{A}_{e}$	np (PS)	0,6	83	849
			2	73	
			6	40	
			20	28	

La estructura de GalNAc3-7a se mostró en el ejemplo 48.

**Ejemplo 108: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc dirigido a Apo(a) *in vivo***

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 118 a continuación se sometieron a prueba en un estudio de dosis única en ratones.

**Tabla 118**

**ASO modificados dirigidos a APO(a)**

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc3	CM	SEQ ID NO.
494372	$\text{T}_{es}\text{G}_{es}{}^m\text{C}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{es}{}^m\text{C}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}{}^m\text{C}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{es}\text{G}_{es}\text{T}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{e}$	np	np	847
681251	<b>GalNAc3-7a-o'</b> $\text{T}_{es}\text{G}_{es}{}^m\text{C}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{es}{}^m\text{C}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}{}^m\text{C}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{es}\text{G}_{es}\text{T}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{e}$	GalNAc3-7a	PO	847
681255	<b>GalNAc3-3a-o'</b> $\text{T}_{es}\text{G}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}\text{T}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}{}^m\text{C}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}{}^m\text{C}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{eo}\text{G}_{eo}\text{T}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{e}$	GalNAc3-3a	PO	847
681256	<b>GalNAc3-10a-o'</b> $\text{T}_{es}\text{G}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}\text{T}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}{}^m\text{C}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}{}^m\text{C}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{eo}\text{G}_{eo}\text{T}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{e}$	GalNAc3-10a	PO	847
681257	<b>GalNAc3-7a-o'</b> $\text{T}_{es}\text{G}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}\text{T}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}{}^m\text{C}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}{}^m\text{C}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{eo}\text{G}_{eo}\text{T}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{e}$	GalNAc3-7a	PO	847
681258	<b>GalNAc3-13a-o'</b> $\text{T}_{es}\text{G}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}\text{T}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}{}^m\text{C}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}{}^m\text{C}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{eo}\text{G}_{eo}\text{T}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{e}$	GalNAc3-13a	PO	847
681260	$\text{T}_{es}\text{G}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}\text{T}_{eo}{}^m\text{C}_{eo}{}^m\text{C}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}\text{G}_{ds}\text{T}_{ds}\text{G}_{ds}{}^m\text{C}_{ds}\text{T}_{ds}\text{T}_{eo}\text{G}_{eo}\text{T}_{es}\text{T}_{es}{}^m\text{C}_{e}\text{A}_{do}'\text{-GalNAc3-19}$	GalNAc3-19a	Ad	854

La estructura de GalNAc3-7a se mostró en el ejemplo 48.

## Tratamiento

A ratones transgénicos macho que expresan Apo(a) humana se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez un oligonucleótido y la dosificación enumerados en la tabla 119 o PBS. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Se extrajo sangre el día antes de la dosificación para determinar los niveles de referencia de la proteína Apo(a) en plasma y 1 semana después de la primera dosis. Se realizan extracciones de sangre adicionales semanalmente durante aproximadamente 8 semanas. Los niveles de proteína Apo(a) en plasma se midieron usando un ELISA. Los resultados en la tabla 119 se presentan como el promedio del porcentaje de niveles de proteína Apo(a) en plasma para cada grupo de tratamiento, normalizados a niveles de referencia (% BL). Los resultados muestran que los oligonucleótidos antisentido redujeron la expresión de proteína Apo(a). Además, los oligonucleótidos que comprenden un grupo conjugado de GalNAc presentaron una reducción aún más potente en la expresión de Apo(a) que el oligonucleótido que no comprende un grupo conjugado.

**Tabla 119**

### Niveles de proteína en plasma de Apo(a)

N.º ISIS	Dosificación (mg/kg)	Apo(a) en 1 semana (% BL)
PBS	np	143
494372	50	58
681251	10	15
681255	10	14
681256	10	17
681257	10	24
681258	10	22
681260	10	26

### Ejemplo 113: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a CEB

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 121 se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido del factor B del complemento humano (CFB) en ratones.

**Tabla 121**

### ASO modificados dirigidos a CFB

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	SEQ ID NO.
588540	$  \begin{array}{c}  A_{cs}T_{cs}^{m}C_{cs}^{m}C_{cs}^{m}C_{cs}^{m}A_{ds}^{m}C_{ds}^{m}G_{ds}^{m}C_{ds}^{m}C_{ds}^{m}C_{ds}^{m} \\  {}^{m}C_{ds}^{m}T_{ds}^{m}G_{ds}^{m}T_{ds}^{m}C_{cs}^{m}C_{cs}^{m}A_{cs}^{m}G_{cs}^{m}C_{cs}^{m}  \end{array}  $	np	np	440
687301	$  \begin{array}{c}  \text{GAINAc}_3\text{-3a-o}, A_{cs}T_{cs}^{m}C_{cs}^{m}C_{cs}^{m}C_{cs}^{m}A_{ds}^{m}C_{ds}^{m}G_{ds}^{m} \\  {}^{m}C_{ds}^{m}C_{ds}^{m}C_{ds}^{m}C_{ds}^{m}T_{ds}^{m}G_{ds}^{m}T_{ds}^{m}C_{cs}^{m}C_{cs}^{m}A_{cs}^{m}G_{cs}^{m}C_{cs}^{m}  \end{array}  $	GalNAc <sub>3</sub> -3a	PO	440

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-3a se mostró previamente en el ejemplo 39.

## Tratamiento

A ratones transgénicos que expresan CFB humano (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) se les inyectó por vía subcutánea una vez por semana durante 3 semanas (un total de 4 dosis) un oligonucleótido enumerado en la tabla 122 o solución salina. Los cuatro grupos de tratamiento que recibieron n.º ISIS 588540 recibieron 6, 12, 25 o 50 mg/kg por dosis. Los cuatro grupos de tratamiento que recibieron n.º ISIS 687301 recibieron 0,25, 0,5, 2 o 6 mg/kg por dosis. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 animales. Los ratones se sacrificaron 2 días después de la administración final para determinar los niveles de ARNm de ciclofilina y CFB humano hepáticos y renales usando PCR ultrarrápida de acuerdo con protocolos estándar. Los niveles de ARNm de CFB se normalizaron a los niveles de ciclofilina, y los promedios para cada grupo de tratamiento se usaron para determinar la dosis que logró una un 50 % de inhibición de la expresión de transcrito de CFB humano (DE<sub>50</sub>). Los resultados son los promedios de cuatro experimentos completados con dos conjuntos de sonda y cebador diferentes y se muestran en la tabla 122.

Tabla 122

Potencias de oligonucleótidos dirigidos a CFB humano *in vivo*

N.º ISIS	DE <sub>50</sub> en hígado (mg/kg)	DE <sub>50</sub> en riñón (mg/kg)	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM
588540	7,9	11,7	np	np
687301	0,49	0,35	GalNAc <sub>3</sub> -3a	PO

Los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), en suero, se midieron en relación con ratones inyectados con solución salina usando protocolos estándar. También se evaluaron la bilirrubina total, BUN y pesos corporales. Los resultados muestran que no hubo cambios significativos en ninguno de los grupos de tratamiento en relación con el grupo tratado con solución salina (datos no mostrados), lo que indica que ambos oligonucleótidos se toleraron muy bien.

Ejemplo 114: inhibición antisentido *in vivo* por oligonucleótidos dirigidos a CFB

Los oligonucleótidos enumerados en la tabla 123 se sometieron a prueba en un estudio dependiente de la dosis para determinar la inhibición antisentido de CFB humano en ratones.

## Tratamiento

A ratones transgénicos que expresan CFB humano (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) se les inyectaron por vía subcutánea una vez 0,6, 1, 6 o 18 mg/kg de un oligonucleótido enumerado en la tabla 123 o solución salina. Cada grupo de tratamiento consistió en 4 o 5 animales. Los ratones se sacrificaron 72 horas después de la dosis para determinar los niveles de ARNm de ciclofilina y CFB humano hepáticos usando PCR ultrarrápida de acuerdo con protocolos estándar. Los niveles de ARNm de CFB se normalizaron a los niveles de ciclofilina, y los promedios para cada grupo de tratamiento se usaron para determinar la dosis que logró una un 50 % de inhibición de la expresión de transcrito de CFB humano (DE<sub>50</sub>). Los resultados se muestran en la tabla 123.

Tabla 123

## ASO modificados dirigidos a CFB

N.º ISIS	Secuencias (5' a 3')	Agrupación de GalNAc <sub>3</sub>	CM	DE <sub>50</sub> en hígado (mg/kg)	SEQ ID NO.
696844	$\text{A}_{\text{es}} \text{T}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}}$ $\text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{A}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{e}}^{\text{m}}$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	0,86	440
696845	$\text{A}_{\text{es}} \text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{eo}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{eo}}^{\text{m}} \text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}}$ $\text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{eo}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{eo}}^{\text{m}} \text{A}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{e}}^{\text{m}}$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	0,71	440
698969	$\text{A}_{\text{cs}} \text{T}_{\text{co}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{co}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{co}}^{\text{m}} \text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}}$ $\text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{eo}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{eo}}^{\text{m}} \text{A}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{es}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{e}}^{\text{m}}$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	0,51	440
698970	$\text{A}_{\text{cs}} \text{T}_{\text{cs}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{co}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{co}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{co}}^{\text{m}} \text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}}$ $\text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{co}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{co}}^{\text{m}} \text{A}_{\text{cs}}^{\text{m}} \text{G}_{\text{cs}}^{\text{m}} \text{C}_{\text{e}}^{\text{m}}$	GalNAc <sub>3</sub> -7a	PO	0,55	440

La estructura de GalNAc<sub>3</sub>-7a se mostró previamente en el ejemplo 48.

## Ejemplo 115: inhibición antisentido del factor B del complemento humano (CFB) en células HepG2 por gámperos MOE

Se diseñaron oligonucleótidos antisentido dirigidos al ácido nucleico del factor B del complemento humano (CFB) y se sometieron a prueba para determinar sus efectos sobre el ARNm de CFB *in vitro*. Los oligonucleótidos antisentido se sometieron a prueba en una serie de experimentos que tuvieron condiciones de cultivo similares. Los resultados de cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 4.500 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de

sonda y cebador humano RTS3459 (secuencia directa AGTCTCTGTGGCATGGTTTGG, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 810; secuencia inversa GGGCGAATGACTGAGATCTTG, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 811; secuencia de sonda TACCGATTACCAACAAGCAACCATGGCA, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 812) para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos recientemente diseñados en las tablas a continuación se diseñaron como gápmers 5-10-5 MOE. Los gápmers 5-10-5 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento de ala 5' y cada nucleósido en el segmento de ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gápmers son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gápmers son 5-metilcitosinas. "Sitio de inicio" indica el nucleósido más hacia 5' al que se dirige el gápmers en la secuencia génica humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más hacia 3' al que se dirige el gápmers en la secuencia génica humana. Cada gápmers enumerado en las tablas a continuación se dirige al ARNm de CFB humano, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 1 (n.º de acceso GENBANK NM\_001710.5) o bien a la secuencia genómica de CFB humano, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 2 (n.º de acceso GENBANK NT\_007592.15 troncada de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o a ambos, 'np' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100 % de complementariedad.

**Tabla 124**

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532608	20	39	Exón 1	GCTGAGCTGCCAGTCAAGGA	36	1741	1760	6
532609	26	45	Exón 1	GGCCCCGCTGAGCTGCCAGT	16	1747	1766	7
532610	45	64	Exón 1	CGGAACATCCAAGCGGGAGG	11	1766	1785	8
532611	51	70	Exón 1	CTTTCCCGGAACATCCAAGC	26	1772	1791	9
532612	100	119	Exón 1	ATCTGTGTTCTGGCACCTGC	25	1821	1840	10
532613	148	167	Exón 1	GTCACATTCCCTTCCCTTGC	39	1869	1888	11
532614	154	173	Exón 1	GACCTGGTCACATTCCCTTC	71	1875	1894	12
532615	160	179	Exón 1	GACCTAGACCTGGTCACATT	35	1881	1900	13
532616	166	185	Exón 1	ACTCCAGACCTAGACCTGGT	39	1887	1906	14
532617	172	191	Exón 1	GCTGAAACTCCAGACCTAGA	27	1893	1912	15
532618	178	197	Exón 1	GTCCAAGCTGAAACTCCAGA	29	1899	1918	16
532619	184	203	Exón 1	CTCAGTGTCCAAGCTGAAAC	21	1905	1924	17
532620	246	265	Exón 1	AGGAGAGAAGCTGGCCTGG	31	1967	1986	18
532621	252	271	Exón 1	GAAGGCAGGAGAGAAGCTGG	25	1973	1992	19

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532622	336	355	Punto de unión de exón 1-2	GTGGTGGTCACACCTCCAGA	28	np	np	20
532623	381	400	Exón 2	CCCTCCAGAGAGCAGGATCC	22	2189	2208	21
532624	387	406	Exón 2	TCTACCCCTCCAGAGAGCA	37	2195	2214	22
532625	393	412	Exón 2	TTGATCTCTACCCCTCCAG	30	2201	2220	23
532626	417	436	Exón 2	TGGAGAAGTCGGAAGGAGCC	35	2225	2244	24
532627	423	442	Exón 2	CCCTCTTGGAGAAGTCGGAA	37	2231	2250	25
532628	429	448	Exón 2	GCCTGGCCCTCTTGGAGAAG	0	2237	2256	26
532629	435	454	Exón 2	TCCAGTGCCTGGCCCTCTTG	26	2243	2262	27
532630	458	477	Exón 2	AGAAGCCAGAAGGACACACG	30	2266	2285	28
532631	464	483	Exón 2	ACGGGTAGAAGCCAGAAGGA	43	2272	2291	29
532632	480	499	Exón 2	CGTGTCTGCACAGGGTACGG	57	2288	2307	30
532633	513	532	Exón 2	AGGGTGCTCCAGGACCCCGT	27	2321	2340	31
532634	560	579	Punto de unión de exón 2-3	TTGCTCTGCACTCTGCCTTC	41	np	np	32
532635	600	619	Exón 3	TATTCCTCCGTTCTCGAAGTC	67	2808	2827	33
532636	626	645	Exón 3	CATTTGTAGTAGGGAGACCGG	24	2834	2853	34
532637	632	651	Exón 3	CACATCACATTGTAGTAGGGA	49	2840	2859	35
532638	638	657	Exón 3	TCTCATCACTCACATTGTAG	50	2846	2865	36
532639	644	663	Exón 3	AAGAGATCTCATCACTCACA	52	2852	2871	37
532640	650	669	Exón 3	AGTGGAAAGAGATCTCATCA	34	2858	2877	38
532641	656	675	Exón 3	CATAGCAGTGGAAAGAGATC	32	2864	2883	39
532642	662	681	Exón 3	AACCGTCATAGCAGTGGAAA	45	2870	2889	40
532643	668	687	Exón 3	GAGTGTAAACCGTCATAGCAG	36	2876	2895	41
532644	674	693	Exón 3	CCCGGAGAGTGTAAACCGTCA	30	2882	2901	42
532645	680	699	Exón 3	CAGAGCCCCGGAGAGTGTAA	27	2888	2907	43
532646	686	705	Exón 3	GATTGGCAGAGCCCCGGAGA	20	2894	2913	44



ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para-da SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532647	692	711	Exón 3	AGGTGCGATTGGCAGAGCCC	28	2900	2919	45
532648	698	717	Exón 3	CTTGGCAGGTGCGATTGGCA	24	2906	2925	46
532649	704	723	Exón 3	CATTCACTTGGCAGGTGCGA	28	2912	2931	47
532650	729	748	Exón 3	ATCGCTGTCTGCCCCACTCCA	44	2937	2956	48
532651	735	754	Exón 3	TCACAGATCGCTGTCTGCCC	44	2943	2962	49
532652	741	760	Exón 3	CCGTTGTACACAGATCGCTGT	27	2949	2968	50
532653	747	766	Punto de unión de exón 3-4	CCCGCTCCGTTGTACAGAT	28	np	np	51
532654	753	772	Punto de unión de exón 3-4	CAGTACCCCGCTCCGTTGTC	13	np	np	52
532655	759	778	Punto de unión de exón 3-4	TTGGAGCAGTACCCCGCTCC	8	np	np	53
532656	789	808	Exón 4	ACCTTCCTTGTGCCAATGGG	40	3152	3171	54
532657	795	814	Exón 4	CTGCCCACCTTCCTTGIGCC	41	3158	3177	55
532658	818	837	Exón 4	CGCTGTCTTCAAGGCGGTAC	33	3181	3200	56
532659	835	854	Exón 4	GCTGCAGTGGTAGGTGACGC	32	3198	3217	57
532660	841	860	Exón 4	CCCCCGGCTGCAGTGGTAGG	17	3204	3223	58
532661	847	866	Exón 4	GGTAAGCCCCCGGCTGCAGT	28	3210	3229	59
532662	853	872	Exón 4	ACGCAGGGTAAGCCCCCGGC	13	3216	3235	60
532663	859	878	Exón 4	GGAGCCACGCAGGGTAAGCC	33	3222	3241	61
532664	866	885	Exón 4	GCCGCTGGGAGCCACGCAGG	10	3229	3248	62
532665	891	910	Exón 4	CAAGAGCCACCTTCCTGACA	17	3254	3273	63
532666	897	916	Exón 4	CCGCTCCAAGAGCCACCTTC	25	3260	3279	64
532667	903	922	Exón 4	TCCGTCCCCGCTCCAAGAGCC	29	3266	3285	65
532668	909	928	Exón 4	GAAGGCTCCGTCCCCGCTCCA	14	3272	3291	66
532669	915	934	Exón 4	TGGCAGGAAGGCTCCGTCCC	18	3278	3297	67

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532670	921	940	Punto de unión de exón 4-5	GAGTCTTGGCAGGAAGGCTC	20	np	np	68
532671	927	946	Punto de unión de exón 4-5	ATGAAGGAGTCTTGGCAGGA	14	np	np	69
532672	956	975	Exón 5	CTTCGGCCACCTCTTGAGGG	45	3539	3558	70
532673	962	981	Exón 5	GGAAAGCTTCGGCCACCTCT	37	3545	3564	71
532674	968	987	Exón 5	AAGACAGGAAAGCTTCGGCC	28	3551	3570	72
532675	974	993	Exón 5	TCAGGGAAGACAGGAAAGCT	16	3557	3576	73
532676	996	1015	Exón 5	TCGACTCCTTCTATGGTCTC	31	3579	3598	74
532677	1033	1052	Punto de unión de exón 5-6	CTTCTGTTGTTCCCTGGGC	36	np	np	75
532678	1068	1087	Exón 6	TTCATGGAGCCTGAAGGGTC	19	3752	3771	76
532679	1074	1093	Exón 6	TAGATGTTTCATGGAGCCTGA	24	3758	3777	77
532680	1080	1099	Exón 6	ACCAGGTAGATGTTTCATGGA	13	3764	3783	78
532681	1086	1105	Exón 6	TCTAGCACCAGGTAGATGTT	20	3770	3789	79
532682	1092	1111	Exón 6	GATCCATCTAGCACCAGGTA	33	3776	3795	80
532683	1098	1117	Exón 6	CTGTCTGATCCATCTAGCAC	44	3782	3801	81
532684	1104	1123	Exón 6	CCAATGCTGTCTGATCCATC	29	3788	3807	82
532685	1129	1148	Exón 6	TTTGGCTCCTGTGAAGTTGC	40	3813	3832	83

Tabla 125

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532686	1135	1154	Exón 6	ACACTTTTGGCTCCTGTGA	91	3819	3838	84
532687	1141	1160	Exón 6	GACTAGACACTTTTGGCTC	77	3825	3844	85
532688	1147	1166	Exón 6	TAAGTTGACTAGACACTTTT	70	3831	3850	86
532689	1153	1172	Exón 6	CTCAATTAAGTTGACTAGAC	61	3837	3856	87

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532690	1159	1178	Punto de unión de exón 6-7	CACCTTCTCAATTAAGTTGA	57	3843	3862	88
532691	1165	1184	Punto de unión de exón 6-7	ACTTGCCACCTTCTCAATTA	56	np	np	89
532692	1171	1190	Punto de unión de exón 6-7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	56	np	np	90
532693	1177	1196	Exón 7	CTTCACACCATAAAGTTGCCA	56	4153	4172	91
532694	1183	1202	Exón 7	TCTTGGCTTCACACCATAAC	55	4159	4178	92
532695	1208	1227	Exón 7	ATGTGGCATAATGTCCTAGA	55	4184	4203	93
532696	1235	1254	Exón 7	CAGACACTTTGACCCAAATT	55	4211	4230	94
532697	1298	1317	Punto de unión de exón 7-8	GGTCTTCATAATTGATTCA	53	np	np	95
532698	1304	1323	Punto de unión de exón 7-8	ACTTGTGGTCTTCATAATTG	53	np	np	96
532699	1310	1329	Punto de unión de exón 7-8	ACTTCAACTTGTGGTCTTCA	52	np	np	97
532700	1316	1335	Exón 8	TCCCTGACTTCAACTTGTGG	52	4609	4628	98
532701	1322	1341	Exón 8	TGTTAGTCCCTGACTTCAAC	52	4615	4634	99
532702	1328	1347	Exón 8	TCCTTGGTGTAGTCCCTGAC	51	4621	4640	100
532703	1349	1368	Exón 8	TGTACACTGCCTGGAGGGCC	51	4642	4661	101
532704	1355	1374	Exón 8	TCATGCTGTACACTGCCTGG	51	4648	4667	102
532705	1393	1412	Exón 8	GTCCAGCCTTCAGGAGGGA	50	4686	4705	103
532706	1399	1418	Exón 8	GGTCCGGTTCAGCCTTCAG	50	4692	4711	104
532707	1405	1424	Exón 8	ATGGCGGGTCCGGTTCAGC	50	4698	4717	105
532708	1411	1430	Exón 8	GATGACATGGCGGTTCGGT	49	4704	4723	106
532709	1417	1436	Exón 8	GAGGATGATGACATGGCGGG	49	4710	4729	107
532710	1443	1462	Punto de unión de exón 8-9	CCCATGTTGTGCAATCCATC	48	np	np	108
532711	1449	1468	Exón 9	TCCCCGCCCATGTTGTGCAA	48	5023	5042	109
532712	1455	1474	Exón 9	ATTGGGTCCCCGCCCATGTT	48	5029	5048	110
532713	1461	1480	Exón 9	ACAGTAATTGGGTCCCCGCC	48	5035	5054	111
532714	1467	1486	Exón 9	TCAATGACAGTAATTGGGTC	47	5041	5060	112
532715	1473	1492	Exón 9	ATCTCATCAATGACAGTAAT	47	5047	5066	113
532716	1479	1498	Exón 9	TCCCGGATCTCATCAATGAC	46	5053	5072	114

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532717	1533	1552	Punto de unión de exón 9-10	ACATCCAGATAATCCTCCCT	46	np	np	115
532718	1539	1558	Punto de unión de exón 9-10	ACATAGACATCCAGATAATC	46	np	np	116
532719	1545	1564	Punto de unión de exón 9-10	CCAAACACATAGACATCCAG	46	np	np	117
532720	1582	1601	Exón 10	AGCATTGATGTTCACTTGGT	46	5231	5250	118
532721	1588	1607	Exón 10	AGCCAAAGCATTGATGTTCA	45	5237	5256	119
532722	1594	1613	Exón 10	CTTGGAAGCCAAAGCATTGA	45	5243	5262	120
532723	1600	1619	Exón 10	GTCTTTCCTTGGAAGCCAAAG	45	5249	5268	121
532724	1606	1625	Exón 10	CTCATTGTCCTTCTTGGAAG	44	5255	5274	122
532725	1612	1631	Exón 10	ATGTTGCTCATTGTCCTTCT	44	5261	5280	123
532726	1618	1637	Exón 10	GAACACATGTTGCTCATTGT	44	5267	5286	124
532727	1624	1643	Exón 10	GACTTTGAACACATGTTGCT	43	5273	5292	125
532728	1630	1649	Exón 10	ATCCTTGACTTTGAACACAT	43	5279	5298	126
532729	1636	1655	Exón 10	TTCCATATCCTTGACTTTGA	43	5285	5304	127
532730	1642	1661	Exón 10	CAGGTTTTCCATATCCTTGA	42	5291	5310	128
532731	1686	1705	Exón 11	CTCAGAGACTGGCTTTCATC	42	5827	5846	129
532732	1692	1711	Exón 11	CAGAGACTCAGAGACTGGCT	42	5833	5852	130
516252	1698	1717	Exón 11	ATGCCACAGAGACTCAGAGA	42	5839	5858	131
532733	1704	1723	Exón 11	CAAACCATGCCACAGAGACT	41	5845	5864	132
532734	1710	1729	Exón 11	TGTTCCCAAACCATGCCACA	41	5851	5870	133
532735	1734	1753	Exón 11	TTGTGGTAATCGGTACCCTT	41	5875	5894	134
532736	1740	1759	Exón 11	GGTTGCTTGTGGTAATCGGT	40	5881	5900	135
532737	1746	1765	Exón 11	TGCCATGGTTGCTTGTGGTA	40	5887	5906	136
532738	1752	1771	Exón 11	TTGGCCTGCCATGGTTGCTT	40	5893	5912	137
532739	1758	1777	Exón 11	GAGATCTTGGCCTGCCATGG	38	5899	5918	138
532740	1803	1822	Exón 12	ACAGCCCCCATACAGCTCTC	38	6082	6101	139
532741	1809	1828	Exón 12	GACACCACAGCCCCCATACA	38	6088	6107	140
532742	1815	1834	Exón 12	TACTCAGACACCACAGCCCC	38	6094	6113	141

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532743	1821	1840	Exón 12	ACAAAGTACTCAGACACCAC	37	6100	6119	142
532744	1827	1846	Exón 12	GTCAGCACAAAGTACTCAGA	37	6106	6125	143
532745	1872	1891	Exón 12	TTGATTGAGTGTTCCCTTGTC	36	6151	6170	144
532746	1878	1897	Exón 12	CTGACCTTGATTGAGTGTTTC	35	6157	6176	145
532747	1909	1928	Exón 13	TATCTCCAGGTCCCGCTTCT	35	6403	6422	146
532748	1967	1986	Exón 13	GAATTCCTGCTTCTTTTTTC	32	6461	6480	147
532749	1973	1992	Exón 13	ATTCAGGAATTCCTGCTTCT	32	6467	6486	148
532750	1979	1998	Exón 13	CATAAAATTCAGGAATTCCT	32	6473	6492	149
532751	1985	2004	Exón 13	CATAGTCATAAAATTCAGGA	31	6479	6498	150
532752	2006	2025	Exón 13	TGAGCTTGATCAGGGCAACG	30	6500	6519	151
532753	2012	2031	Exón 13	TATCTTGAGCTTGATCAGG	30	6506	6525	152
532754	2048	2067	Punto de unión de exón 13-14	GACAAATGGGCCTGATAGTC	30	np	np	153
532755	2070	2089	Exón 14	GTTGTTCCCTCGGTGCAGGG	29	6659	6678	154
532756	2076	2095	Exón 14	GCTCGAGTTGTTCCCTCGGT	28	6665	6684	155
532757	2082	2101	Exón 14	CTCAAAGCTCGAGTTGTTCC	28	6671	6690	156
532758	2088	2107	Exón 14	GGAAGCCTCAAAGCTCGAGT	25	6677	6696	157
532759	2094	2113	Exón 14	GTTGGAGGAAGCCTCAAAGC	23	6683	6702	158
532760	2100	2119	Exón 14	GTGGTAGTTGGAGGAAGCCT	23	6689	6708	159
532761	2106	2125	Exón 14	TGGCAAGTGGTAGTTGGAGG	18	6695	6714	160
532762	2112	2131	Exón 14	TGTTGCTGGCAAGTGGTAGT	14	6701	6720	161

**Tabla 126**

Inhibición de ARNm de CFB por gámperos 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5328 12	np	np	Exón 1	TCCAGCTCACTCCCCGTGG	19	1593	1612	162
5328 13	np	np	Exón 1	TAAGGATCCAGCTCACTCCC	40	1599	1618	163
5328 14	np	np	Exón 1	CAGAAATAAGGATCCAGCTC	39	1605	1624	164
5328 15	np	np	Exón 1	AGGGACCAGAAATAAGGATC	0	1611	1630	165
5328 16	np	np	Exón 1	CCACTTAGGGACCAGAAATA	27	1617	1636	166

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5328 17	np	np	Exón 1	TCCAGGACTCTCCCCCTTCAG	39	1682	1701	167
5328 18	np	np	Exón 1	AAGTCCCACCCTTTGCTGCC	15	1707	1726	168
5328 19	np	np	Exón 1	CTGCAGAAGTCCCACCCTTT	26	1713	1732	169
5328 20	np	np	Exón 1	CAGAAACTGCAGAAGTCCCA	8	1719	1738	170
5328 21	np	np	Exón 2 - Intrón 2	AACCTCTGCACTCTGCCTTC	39	2368	2387	171
5328 22	np	np	Exón 2 - Intrón 2	CCCTCAAACCTCTGCACTCT	3	2374	2393	172
5328 23	np	np	Exón 2 - Intrón 2	TCATTGCCCTCAAACCTCTG	19	2380	2399	173
5328 24	np	np	Intrón 2	CCACACTCATTGCCCTCAAA	37	2386	2405	174
5328 25	np	np	Intrón 2	CACCTGCCACACTCATTGCC	23	2392	2411	175
5328 26	np	np	Intrón 2	TTAGGCCACTGCCACACTC	15	2398	2417	176
5328 27	np	np	Intrón 2	CTAGTCCCTGACCTTGCTGCC	28	2436	2455	177
5328 28	np	np	Intrón 2	CTCATCCTAGTCCCTGACCTT	25	2442	2461	178
5328 29	np	np	Intrón 2	CCTAGTCTCATCCTAGTCCT	23	2448	2467	179
5328 30	np	np	Intrón 2	ACCCTGCCTAGTCTCATCCT	30	2454	2473	180
5328 31	np	np	Intrón 2	CTTGTCACCCTGCCTAGTCT	34	2460	2479	181
5328 32	np	np	Intrón 2	GCCCACCTTGTCACCCTGCC	36	2466	2485	182
5328 33	np	np	Intrón 2	CCTAAAACCTGCTCCTACTCC	9	2492	2511	183
5328 34	np	np	Intrón 4	GAGTCAGAAATGAGGTCAAA	19	3494	3513	184
5328 35	np	np	Intrón 11	CCCTACTCCCATTTCACCTT	16	5971	5990	185
5328 36	np	np	Intrón 8 - Exón 9	TGTTGTGCAATCCTGCAGAA	25	5013	5032	186
5328 37	np	np	Intrón 1	AAAGGCTGATGAAGCCTGGC	18	2123	2142	187
5328 38	np	np	Intrón 7	CCTTTGACCACAAAGTGGCC	21	4461	4480	188
5328 39	np	np	Intrón 12	AGGTACCACCTCTTTGTGGG	29	6362	6381	189
5328 40	np	np	Intrón 1 - Exón 2	TGGTGGTCACACCTGAAGAG	34	2143	2162	190
5327 63	2133	2152	Punto de unión de exón 14-15	GCAGGGAGCAGCTCTTCCTT	40	np	np	191
5327 64	2139	2158	Exón 15	TCCTGTGCAGGGAGCAGCTC	28	6927	6946	192
5327 65	2145	2164	Exón 15	TTGATATCCTGTGCAGGGAG	41	6933	6952	193
5327 66	2151	2170	Exón 15	AGAGCTTTGATATCCTGTGC	36	6939	6958	194
5327 67	2157	2176	Exón 15	ACAAACAGAGCTTTGATATC	33	6945	6964	195

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5327 68	2163	2182	Exón 15	TCAGACACAAACAGAGCTTT	41	6951	6970	196
5327 69	2169	2188	Exón 15	TCCCTCCTCAGACACAAACAG	49	6957	6976	197
5327 70	2193	2212	Exón 15	ACCTCCTTCCGAGTCAGCTT	61	6981	7000	198
5327 71	2199	2218	Exón 15	ATGTAGACCTCCTTCCGAGT	39	6987	7006	199
5327 72	2205	2224	Exón 15	TTCTTGATGTAGACCTCCTT	30	6993	7012	200
5327 73	2211	2230	Exón 15	TCCCCATTCTTGATGTAGAC	31	6999	7018	201
5327 74	2217	2236	Punto de unión de exón 15-16	TTCTTATCCCCATTCTTGAT	36	np	np	202
5327 75	2223	2242	Punto de unión de exón 15-16	CTGCCTTTCTTATCCCCATT	56	np	np	203
5327 76	2229	2248	Punto de unión de exón 15-16	TCACAGCTGCCTTTCTTATC	33	np	np	204
5327 77	2235	2254	Exón 16	TCTCTCTCACAGCTGCCTTT	38	7119	7138	205
5327 78	2241	2260	Exón 16	TGAGCATCTCTCTCACAGCT	51	7125	7144	206
5327 79	2247	2266	Exón 16	GCATATTGAGCATCTCTCTC	39	7131	7150	207
5327 80	2267	2286	Exón 16	TGACTTTGTATAGCCTGGG	56	7151	7170	208
5327 81	2273	2292	Exón 16	TGTCCTTGACTTTGTATAG	36	7157	7176	209
5327 82	2309	2328	Exón 16	CAGTACAAAGGAACCGAGGG	30	7193	7212	210
5327 83	2315	2334	Exón 16	CTCCTCCAGTACAAAGGAAC	21	7199	7218	211
5327 84	2321	2340	Exón 16	GACTCACTCCTCCAGTACAA	31	7205	7224	212
5327 85	2327	2346	Exón 16	CATAGGGACTCACTCCTCCA	30	7211	7230	213
5327 86	2333	2352	Exón 16	GGTCAGCATAGGGACTCACT	31	7217	7236	214
5327 87	2352	2371	Punto de unión de exón 16-17	TCACCTCTGCAAGTATTGGG	42	7236	7255	215
5327 88	2358	2377	Punto de unión de exón 16-17	CCAGAATCACCTCTGCAAGT	32	np	np	216
5327 89	2364	2383	Punto de unión de exón 16-17	GGGCCGCCAGAATCACCTCT	35	np	np	217
5327 90	2382	2401	Exón 17	CTCTTGTGAACTATCAAGGG	33	7347	7366	218
5327 91	2388	2407	Exón 17	CGACTTCTCTTGTGAACTAT	52	7353	7372	219

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5327 92	2394	2413	Exón 17	ATGAAACGACTTCTCTTGTTG	16	7359	7378	220
5327 93	2400	2419	Punto de unión de exón 17-18	ACTTGAATGAAACGACTTCT	45	7365	7384	221
5327 94	2406	2425	Punto de unión de exón 17-18	ACACCAACTTGAATGAAACG	18	np	np	222
5327 95	2427	2446	Exón 18	TCCACTACTCCCCAGCTGAT	30	7662	7681	223
5327 96	2433	2452	Exón 18	CAGACATCCACTACTCCCCA	38	7668	7687	224
5327 97	2439	2458	Exón 18	TTTTTGCAGACATCCACTAC	35	7674	7693	225
5327 98	2445	2464	Exón 18	TTCTGGTTTTTGCAGACATC	45	7680	7699	226
5327 99	2451	2470	Exón 18	TGCCGCTTCTGGTTTTTGCA	47	7686	7705	227
5328 00	2457	2476	Exón 18	TGCTTTTGCCGCTTCTGGTT	61	7692	7711	228
5328 01	2463	2482	Exón 18	GGTACCTGCTTTTGCCGCTT	47	7698	7717	229
5328 02	2469	2488	Exón 18	TGAGCAGGTACCTGCTTTTG	31	7704	7723	230
5328 03	2517	2536	Exón 18	TTCAGCCAGGGCAGCACTTG	41	7752	7771	231
5328 04	2523	2542	Exón 18	TTCTCCTTCAGCCAGGGCAG	44	7758	7777	232
5328 05	2529	2548	Exón 18	TGGAGTTTCTCCTTCAGCCA	46	7764	7783	233
5328 06	2535	2554	Exón 18	TCATCTTGGAGTTTCTCCTT	49	7770	7789	234
5328 07	2541	2560	Exón 18	AAATCCTCATCTTGGAGTTT	30	7776	7795	235
5328 08	2547	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCATCTTG	20	7782	7801	236
5328 09	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	65	7806	7825	237
5328 10	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	74	7812	7831	238
5328 11	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	96	7834	7853	239

**Tabla 127**

Inhibición de ARNm de CFB por gámperos 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532841	np	np	Intrón 6-Exón 7	AACTTGCCACCTGTGGGTGA	4142	4161	11	240
532842	np	np	Exón 15 - Intrón 15	TCACCTTATCCCCATTCTTG	7007	7026	16	241
532843	np	np	Intrón 11	TCAACTTTCACAAACCACCA	6015	6034	19	242



N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532844	np	np	Intrón 16 - Exón 17	CCCCAGAATCACCTGCAAG	7326	7345	33	243
532845	np	np	Intrón 10	AGGAGGAATGAAGAAGGCTT	5431	5450	29	244
532846	np	np	Intrón 13	GCCTTTCCTCAGGGATCTGG	6561	6580	26	245
532847	np	np	Intrón 4	AAATGTCTGGGAGTGTGAGG	3477	3496	18	246
532848	np	np	Intrón 15	GCCTAGAGTGCCTCCTTAGG	7038	7057	20	247
532849	np	np	Intrón 17	GGCATCTCCCCAGATAGGAA	7396	7415	16	248
532850	np	np	Intrón 6	AGGGAGCTAGTCTTGGGAAGA	3906	3925	14	249
532851	np	np	Intrón 1 - Exón 2	ACACCTGAAGAGAAAGGCTG	2135	2154	6	250
532852	np	np	Intrón 7	CCCTTTGACCACAAAGTGGC	4462	4481	25	251
532853	np	np	Intrón 7	GCCCTCAAGGTAGTCTCATG	4354	4373	26	252
532854	np	np	Intrón 6	AAGGGAAGGAGGACAGAATA	3977	3996	18	253
532855	np	np	Intrón 1	AAAGGCCAAGGAGGGATGCT	2099	2118	9	254
532856	np	np	Exón 8 - Intrón 8	AGAGGTCCCTTCTGACCATC	4736	4755	4	255
532857	np	np	Intrón 8	GCTGGGACAGGAGAGAGGTC	4749	4768	0	256
532858	np	np	Intrón 4	TCAAATGTCTGGGAGTGTCA	3479	3498	13	257
532859	np	np	Intrón 10	AGAAGGAGAAATGTGCTGAAA	5801	5820	20	258
532860	np	np	Intrón 17	TGCTGACCACTTGGCATCTC	7408	7427	20	259
532861	np	np	Intrón 11	CAACTTTCACAAACCACCAT	6014	6033	18	260
532862	np	np	Intrón 10	AGCTCTGTGATTCTAAGGTT	5497	5516	15	261
532863	np	np	Intrón 6 - Exón 7	CCACCTGTGGGTGAGGAGAA	4136	4155	16	262
532864	np	np	Exón 17 - Intrón 17	GAGGACTCACTTGAATGAAA	7373	7392	21	263
532865	np	np	Intrón 6	TGGAATGATCAGGGAGCTAG	3916	3935	30	264
532866	np	np	Intrón 5	GTCCCTTCTCCATTTTCCCC	3659	3678	26	265
532867	np	np	Intrón 7	TCAACTTTTAAAGTTAATCA	4497	4516	14	266
532868	np	np	Intrón 6	GGGTGAGGAGAACAAAGGCGC	4128	4147	21	267
532869	np	np	Intrón 7	CTTCCAAGCCATCTTTTAAC	4553	4572	5	268
532870	np	np	Exón 17 - Intrón 17	AGGACTCACTTGAATGAAAC	7372	7391	18	269
532871	np	np	Intrón 10	TTCCAGGCAACTAGAGCTT	5412	5431	15	270
532872	np	np	Exón 1	CAGAGTCCAGCCACTGTTTG	1557	1576	13	271
532873	np	np	Intrón 17 - Exón 18	CCAACCTGCAGAGGCAGTGG	7638	7657	23	272
532874	np	np	Intrón 16	TGCAAGGAGAGGAGAAGCTG	7312	7331	10	273
532875	np	np	Exón 9 - Intrón 9	CTAGGCAGGTTACTCACCCA	5120	5139	21	274
532876	np	np	Intrón 6 - Exón 7	CACCATAACTTGCCACCTGT	4148	4167	41	275
532877	np	np	Intrón 12	TAGGTACCACCTCTTTGTGG	6363	6382	27	276
532878	np	np	Intrón 11	CTTGACCTCACCTCCCCCAA	5954	5973	13	277
532879	np	np	Intrón 12	CCACCTCTTTGTGGGCAGCT	6357	6376	33	278
532880	np	np	Intrón 11	TTACAAACCACCATCTCTT	6009	6028	8	279
532881	np	np	Exón 3 - Intrón 3	TTCTCACCTCCGTTGTCACA	2958	2977	17	280
532882	np	np	Intrón 12	GAAAGTGGGAGGTGTTCCT	6225	6244	19	281
532883	np	np	Intrón 1	ACAGCAGGAAGGGAAGGTTA	2075	2094	34	282
532884	np	np	Intrón 17	CATGCTGACCACTTGGCATC	7410	7429	18	283
532885	np	np	Exón 4 - Intrón 4	GGTCACCTTGGCAGGAAGGC	3286	3305	0	284
532886	np	np	Intrón 8	GTATAGTGTACAAAGTGGAC	4804	4823	13	285
532887	np	np	Intrón 7	GGACTTCCCTTTGACCACAA	4468	4487	18	286
532888	np	np	Intrón 11	TCACCTTGACCTCACCTCCC	5958	5977	20	287
532889	np	np	Intrón 15	TAGAGTGCCTGCTTAGGATG	7035	7054	27	288
532890	np	np	Intrón 7	TGACTTCAACTTGTGGTCTG	4605	4624	16	289
532891	np	np	Intrón 10	CAGAGAAGGAGAATGTGCTG	5804	5823	25	290

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532892	np	np	Intrón 14 - Exón 15	AGGGAGCAGCTCTTCCTCTG	6919	6938	47	291
532893	np	np	Intrón 5 - Exón 6	TGTTCCCTGGGTGCCAGGA	3710	3729	24	292
532894	np	np	Intrón 10	GGCCTGGCTGTTTTCAAGCC	5612	5631	15	293
532895	np	np	Intrón 10 - Exón 11	GACTGGCTTTCATCTGGCAG	5821	5840	25	294
532896	np	np	Intrón 10	GAAGGCTTTCCAGGCAACTA	5419	5438	19	295
532897	np	np	Exón 17 - Intrón 17	TCACTTGAATGAAACGACTT	7367	7386	11	296
532898	np	np	Intrón 1	GGCCCCAAAAGGCCAAGGAG	2106	2125	5	297
532899	np	np	Intrón 16 - Exón 17	AATCACCTGCAAGGAGAGGA	7319	7338	19	298
532900	np	np	Intrón 12	GACCTTCAGTTGCATCCTTA	6183	6202	25	299
532901	np	np	Intrón 1	TGATGAAGCCCTGGCCCCAAA	2117	2136	0	300
532902	np	np	Intrón 12	TAGAAAGTCGGAGCTGTTC	6227	6246	0	301
532903	np	np	Intrón 12	CCCATCCCTGACTGGTCTGG	6295	6314	14	302
532904	np	np	Intrón 8	CCAIGGGTATAGTGTACAA	4810	4829	13	303
532905	np	np	Intrón 2	GTGTTCTCTTGACTTCCAGG	2586	2605	23	304
532906	np	np	Intrón 13	GGCCTGCTCCTCACCCCACT	6597	6616	27	305
532907	np	np	Intrón 10	GAGGCCTGGCTGTTTTCAAG	5614	5633	32	306
532908	np	np	Exón 1	GACTCTCCCTTCAGTACCT	1677	1696	16	307
532909	np	np	Intrón 8	CATGGGTATAGTGTACAAAG	4809	4828	10	308
532910	np	np	Intrón 10	GAAGGAGAATGTGCTGAAAA	5800	5819	0	309
532911	np	np	Intrón 7	TCACCTGGTCTTCCAAGCCA	4562	4581	0	310
532912	np	np	Intrón 17	CTCCCCAGATAGGAAAGGGA	7391	7410	0	311
532913	np	np	Exón 17 - Intrón 17	GGACTCACTTGAATGAAACG	7371	7390	0	312
532914	np	np	Intrón 16 - Exón 17	GGCCGCCAGAATCACCTGCA	7328	7347	30	313
532915	np	np	Exón 17 - Intrón 17	CTCACTTGAATGAAACGACT	7368	7387	22	314
532916	np	np	Intrón 13	CTTTCCCAGCCTTTCTCTAG	6569	6588	28	315
532918	np	np	Intrón 12	AGAAAGTGGGAGGTGTTGCC	6226	6245	3	316
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	7839	7858	90	317

Tabla 128

Inhibición de ARNm de CFB por gámperos 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
532919	np	np	Exón 1	CCAGGACTCTCCCCCTCAGT	1681	1700	4	318
532920	np	np	Intrón 6	AGGGAAGGAGGACAGAATAG	3976	3995	25	319
532921	np	np	Intrón 4	GAAATGAGGTCAAATGTCTG	3488	3507	30	320
532922	np	np	Intrón 4	GCAGAGTCAGAAATGACGTC	3497	3516	25	321

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5329 23	np	np	Intrón 12	GTAGAAAGTGGGAGGTGTTG	6228	6247	26	322
5329 24	np	np	Intrón 10	TAGAAAGATCTCTGAAGTGC	5521	5540	24	323
5329 25	np	np	Intrón 13	CTGCTGCTCACCCCAGTCCT	6594	6613	26	324
5329 26	np	np	Intrón 11	CTACTGGGATTCTGTGCTTA	5927	5946	30	325
5329 27	np	np	Intrón 1	CCCCAAAAGGCCAAGGAGGGA	2103	2122	13	326
5329 28	np	np	Intrón 17	TGACCACCTTGGCATCTCCCC	7405	7424	27	327
5329 29	np	np	Intrón 16 - Exón 17	CTTGCAACGAGAGGAGAAGC	7314	7333	29	328
5329 30	np	np	Exón 16 - Intrón 16	CTCTCACCTCTGCAAGTATT	7239	7258	44	329
5329 31	np	np	Intrón 1	CCCCAAAAGGCCAAGGAGGG	2104	2123	21	330
5329 32	np	np	Intrón 7	GTCTTCCAAGCCATCTTTTA	4555	4574	20	331
5329 33	np	np	Intrón 8	GTTACAAGTGGACTTAAGGG	4797	4816	30	332
5329 34	np	np	Intrón 8 - Exón 9	CCCATGTTGTGCAATCCTGC	5017	5036	30	333
5329 35	np	np	Intrón 15	GAGGTGGGAAGCATGGAGAA	7091	7110	17	334
5329 36	np	np	Intrón 14	TGCTCCCACCCTGTCTCT	6874	6893	21	335
5329 37	np	np	Exón 9 - Intrón 9	AGGCAGGTACTCACCCAGA	5118	5137	18	336
5329 38	np	np	Intrón 11	TACTGGGATTCCTGTGCTTAC	5926	5945	15	337
5329 39	np	np	Intrón 13	GCCTTTCCAGCCTTTCTC	6571	6590	27	338
5329 40	np	np	Intrón 8 - Exón 9	GTGCAATCCTGCAGAAGAGA	5009	5028	21	339
5329 41	np	np	Intrón 8	ACAGGAGAGAGGTCCCTTCT	4743	4762	20	340
5329 42	np	np	Intrón 10	CCCCAAAAGGAGAAAGGGAAA	5717	5736	14	341
5329 43	np	np	Intrón 2	AAGCCCAGGGTAAATGCTTA	2557	2576	32	342
5329 44	np	np	Intrón 1	GATGAAGCCTGGCCCCAAA	2116	2135	22	343
5329 45	np	np	Intrón 10	TGTCAGAGAAAGGAGAATGTG	5807	5826	22	344
5329 46	np	np	Intrón 13	TTCCCAGCCTTTCCTCAGGG	6567	6586	35	345
5329 47	np	np	Intrón 10	GGCAGAGAAGGAGAATGTGC	5806	5825	30	346
5329 48	np	np	Intrón 10	ACAGTGGCAGGAAACAAAGAA	5471	5490	25	347
5329 49	np	np	Exón 9 - Intrón 9	TAGGCAGGTACTCACCCAG	5119	5138	22	348
5329 50	np	np	Intrón 2	TTCTCTTGACTTCCAGGGCT	2583	2602	22	349
5329 51	np	np	Intrón 13	CCTGCTCCTCACCCCAGTCC	6595	6614	16	350
5329 53	np	np	Intrón 7	TCCCACTAACCTCCATTGCC	4422	4441	14	351
5329 54	np	np	Intrón 7	TTCCCTTTGACCACAAAGTG	4464	4483	16	352

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5329 55	np	np	Intrón 9	CTGGGTCTAGGCAGGTTAC	5127	5146	30	353
5329 56	np	np	Intrón 10	TCCAGGCAACTAGAGCTTCA	5411	5430	20	354
5329 57	np	np	Intrón 8 - Exón 9	GCCCATGTTGTGCAATCCTG	5018	5037	45	355
5329 58	np	np	Intrón 7	GGTTCCCACTAACCCTCCATT	4425	4444	18	356
5329 59	np	np	Intrón 3	AGGTAGAGAGCAAGAGTTAC	3052	3071	26	357
5329 60	np	np	Intrón 7	CCACTAACCTCCATTGCCCA	4420	4439	10	358
5329 61	np	np	Intrón 11	TCACAAACCACCACTCTTA	6008	6027	40	359
5329 62	np	np	Exón 9 - Intrón 9	TACTCACCCAGATAATCCTC	5110	5129	27	360
5329 63	np	np	Intrón 13	TGCTCCTCACCCCAGTCCTC	6593	6612	24	361
5329 64	np	np	Intrón 15 - Exón 16	TCTCACAGCTGCCTTTCTGT	7115	7134	25	362
5329 65	np	np	Exón 17 - Intrón 17	GAAAGGGAGGACTCACTTGA	7379	7398	11	363
5329 66	np	np	Intrón 7	CCATCTTTTAACCCCAGAGA	4545	4564	18	364
5329 67	np	np	Intrón 13	TCCTCACCCCAGTCCTCCAG	6590	6609	27	365
5329 68	np	np	Intrón 10	CTGGCAGAGAAGGAGAATGT	5808	5827	15	366
5329 69	np	np	Intrón 17	TCTCCCCAGATAGGAAAGGG	7392	7411	23	367
5329 70	np	np	Intrón 14	ACTTCAGCTGCTCCCAACAC	6882	6901	18	368
5329 71	np	np	Intrón 1	GACAGCAGGAAGGGAAGGTT	2076	2095	13	369
5329 72	np	np	Intrón 13 - Exón 14	GGAGACAAATGGGCTTATAA	6640	6659	33	370
5329 73	np	np	Intrón 14	CTGCTCCCACTGTCATC	6875	6894	11	371
5329 74	np	np	Intrón 10	AGGAATGAAGAAGGCTTTCC	5428	5447	21	372
5329 75	np	np	Intrón 14	GGGATCTCATCCTTATCCTC	6741	6760	31	373
5329 76	np	np	Intrón 9	GTGCTGGGTCTAGGCAGGT	5130	5149	16	374
5329 77	np	np	Intrón 1	CAAAAGGCCAAGGAGGGATC	2101	2120	14	375
5329 78	np	np	Intrón 17	CCATGCTGACCACCTGGCAT	7411	7430	20	376
5329 79	np	np	Intrón 8	GGAGGCTGGGACAGGAGAGA	4753	4772	25	377
5329 80	np	np	Intrón 14 - Exón 15	GGAGCAGCTCTTCTCTGGA	6917	6936	36	378
5329 81	np	np	Exón 3 - Intrón 3	TCTCACCTCCGTTGTCACAG	2957	2976	20	379
5329 82	np	np	Intrón 13	CAGTCTCCAGCCTTTCCCA	6581	6600	21	380
5329 83	np	np	Intrón 13	AGTCTTCCAGCCTTCCCA	6580	6599	22	381
5329 84	np	np	Intrón 4 - Exón 5	TGAAGGAGTCTGGGAGAGTC	3509	3528	12	382

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5329 85	np	np	Intrón 16 - Exón 17	CAGAAACACCACGCAAGGAGA	7322	7341	20	383
5329 86	np	np	Exón 17 - Intrón 17	TAGGAAAGGGAGGACTCACT	7382	7401	3	384
5329 87	np	np	Exón 4 - Intrón 4	ACCTTCGGCAGGAAAGKCTCCG	3282	3301	12	385
5329 88	np	np	Intrón 13 - Exón 14	GAGACAAATGGGCCATATAA	6639	6658	15	386
5329 89	np	np	Intrón 1	CTGAAGAGAAAGGCTGATGA	2131	2150	17	387
5329 90	np	np	Intrón 6	AATGATCAGGGAGCTAGTCC	3913	3932	30	388
5329 91	np	np	Intrón 17	CTTAGCTGACCTAAAGGAAT	7557	7576	22	389
5329 92	np	np	Intrón 8	TGGGTATAGTGTACAAAGTG	4807	4826	17	390
5329 93	np	np	Intrón 1	TGAAGAGAAAGCCTGATGAA	2130	2149	19	391
5329 94	np	np	Intrón 8	GTGTACCAAGTGGACCTAAG	4799	4818	25	392
5329 95	np	np	Intrón 6	ACCTGTGGGTGAGGAGAACA	4134	4153	24	393
5329 96	np	np	Exón 9 - Intrón 9	TCACCCAGATAATCCTCCCT	5107	5126	36	394
5329 52	2608	2627	Exón 18	TGTTGTGCGCAGCTGTTTTAA	7843	7862	90	395

**Ejemplo 116: inhibición antisentido del factor B del complemento humano (CFB) en células HepG2 por gápmers MOE**

- 5 Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del factor B del complemento humano (CFB) y se sometieron a prueba para determinar sus efectos sobre el ARNm de CFB *in vitro*. Se transfecaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 4.500 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó
- 10 el conjunto de sonda y cebador humano RTS3460\_MGB (secuencia directa CGAAGCAGCTCAATGAAATCAA, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 813; secuencia inversa TGCCTGGAGGGCCTTCTT, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 814; secuencia de sonda AGACCACAAGTTGAAGTC, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 815) para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los
- 15 resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos recientemente diseñados en las tablas a continuación se diseñaron como gápmers 5-10-5 MOE. Los gápmers 5-10-5 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la

20 dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento de ala 5' y cada nucleósido en el segmento de ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gápmers son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gápmers son 5-metilcitosinas. "Sitio de inicio" indica el nucleósido más hacia 5' al que se dirige el gápmers en la secuencia génica humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más hacia 3' al que se dirige el gápmers en la secuencia génica humana. Cada gápmers enumerado en las tablas a continuación se dirige al ARNm de CFB humano, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 1 (n.º de acceso GENBANK NM\_001710.5) o bien a la secuencia genómica de CFB humano, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 2 (n.º de acceso GENBANK NT\_007592.15 truncada de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o a ambos, 'np' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100 % de complementariedad.

30

Tabla 129

Inhibición de ARNm de CFB por gápmoros 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 y 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SE Q ID NO:
532686	1135	1154	Exón 6	ACACTTTTTGGCTCCTGTGA	48	3819	3838	84
532687	1141	1160	Exón 6	GACTAGACACTTTTTGGCTC	63	3825	3844	85
532688	1147	1166	Exón 6	TAAGTTGACTAGACACTTTT	47	3831	3850	86
532689	1153	1172	Exón 6	CTCAATTAAGTTGACTAGAC	57	3837	3856	87
532690	1159	1178	Punto de unión de exón 6-7	CACCTTCTCAATTAAGTTGA	49	3843	3862	88
532691	1165	1184	Punto de unión de exón 6-7	ACTTGCCACCTTCTCAATTA	33	np	np	89
532692	1171	1190	Punto de unión de exón 6-7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	67	np	np	90
532693	1177	1196	Exón 7	CTTCACACCATAACTTGCCA	56	4153	4172	91
532694	1183	1202	Exón 7	TCTTGGCTTCACACCATAAC	50	4159	4178	92
532695	1208	1227	Exón 7	ATGTGGCATATGTCCTAGAC	53	4184	4203	93
532696	1235	1254	Exón 7	CAGACACTTTGACCCAAATT	52	4211	4230	94
532697	1298	1317	Punto de unión de exón 7-8	GCTCTTCATAATTGATTCA	59	np	np	95
532698	1304	1323	Punto de unión de exón 7-8	ACTTGTGGTCTTCATAATTG	52	np	np	96
532699	1310	1329	Punto de unión de exón 7-8	ACTTCAACTTGTGGTCTTCA	85	np	np	97
532700	1316	1335	Exón 8	TCCCTGACTTCAACTTGTGG	96	4609	4628	98
532701	1322	1341	Exón 8	TGTTAGTCCCTGACTTCAAC	56	4615	4634	99
532702	1328	1347	Exón 8	TCTTGGTGTAGTCCCTGAC	86	4621	4640	100
532703	1349	1368	Exón 8	TGTACACTGCCTGGAGGGCC	35	4642	4661	101
532704	1355	1374	Exón 8	TCATGCTGTACACTGCCTGG	12	4648	4667	102
532705	1393	1412	Exón 8	GTTCCAGCCTTCAGGAGGGA	27	4686	4705	103
532706	1399	1418	Exón 8	GGTGCGGTTCCAGCCTTCAG	67	4692	4711	104
532707	1405	1424	Exón 8	ATGCGCGGTGCGGTTCCAGC	26	4698	4717	105
532708	1411	1430	Exón 8	GATGACATGGCGGGTGCGGT	28	4704	4723	106
532709	1417	1436	Exón 8	GAGGATGATGACATGGCGGG	6	4710	4729	107
532710	1443	1462	Punto de unión de exón 8-9	CCCATGTTGTGCAATCCATC	35	np	np	108
532711	1449	1468	Exón 9	TCCCCGCCCATGTTGTGCAA	28	5023	5042	109
532712	1455	1474	Exón 9	ATTGGGTCCCCGCCCATGTT	19	5029	5048	110
532713	1461	1480	Exón 9	ACAGTAATTGGTCCCCGCC	29	5035	5054	111
532714	1467	1486	Exón 9	TCAATGACAGTAATTGGGTC	49	5041	5060	112
532715	1473	1492	Exón 9	ATCTCATCAATGACAGTAAT	45	5047	5066	113
532716	1479	1498	Exón 9	TCCCGGATCTCATCAATGAC	54	5053	5072	114
532717	1533	1552	Punto de unión de exón 9-10	ACATCCAGATAATCCTCCCT	22	np	np	115
532718	1539	1558	Punto de unión de exón 9-10	ACATAGACATCCAGATAATC	8	np	np	116
532719	1545	1564	Punto de unión de exón 9-10	CCAAACACATAGACATCCAG	30	np	np	117
532720	1582	1601	Exón 10	AGCATTGATGTTCACTTGGT	62	5231	5250	118
532721	1588	1607	Exón 10	AGCCAAAGCATTGATGTICA	46	5237	5256	119
532722	1594	1613	Exón 10	CTTGGAAGCCAAAGCATTGA	35	5243	5262	120
532723	1600	1619	Exón 10	GTCTTTCTTGGAAGCCAAAG	43	5249	5268	121
532724	1606	1625	Exón 10	CTCATTGTCTTTCTTGGAAG	40	5255	5274	122
532725	1612	1631	Exón 10	ATGTTGCTCATTGTCTTTCT	49	5261	5280	123
532726	1618	1637	Exón 10	GAACACATGTTGCTCATTGT	68	5267	5286	124
532727	1624	1643	Exón 10	GACTTTGAACACATGTTGCT	54	5273	5292	125

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SE Q ID NO:
532728	1630	1649	Exón 10	ATCCTTGACTTTGAACACAT	61	5279	5298	126
532729	1636	1655	Exón 10	TTCATATCCTTGACTTTGA	55	5285	5304	127
532730	1642	1661	Exón 10	CAGGTTTTCCATATCCTTGA	51	5291	5310	440
532731	1686	1705	Punto de unión de exón 10-11	CTCAGAGACTGGCTTTCATC	41	5827	5846	129
532732	1692	1711	Exón 11	CAGAGACTCAGAGACTGGCT	59	5833	5852	130
516252	1698	1717	Exón 11	ATGCCACAGAGACTCAGAGA	57	5839	5858	131
532733	1704	1723	Exón 11	CAAACCATGCCACAGAGACT	34	5845	5864	132
532734	1710	1729	Exón 11	TGTTCCCAAACCATGCCACA	51	5851	5870	133
532735	1734	1753	Exón 11	TTGTGGTAATCGGTACCCCTT	50	5875	5894	134
532736	1740	1759	Exón 11	GGTTGCTTGTGGTAATCGGT	64	5881	5900	135
532737	1746	1765	Exón 11	TGCCATGGTTGCTTGTGGTA	40	5887	5906	136
532738	1752	1771	Exón 11	TTGGCCTGCCATGGTTGCTT	49	5893	5912	137
532739	1758	1777	Exón 11	GAGATCTTGGCCTGCCATGG	47	5899	5918	138
532740	1803	1822	Exón 12	ACAGCCCCCATAACAGCTCTC	48	6082	6101	139
532741	1809	1828	Exón 12	GACACCACAGCCCCCATAACA	40	6088	6107	140
532742	1815	1834	Exón 12	TACTCAGACACCACAGCCCC	33	6094	6113	141
532743	1821	1840	Exón 12	ACAAAGTACTCAGACACCAC	39	6100	6119	142
532744	1827	1846	Exón 12	GTCAGCACAAAGTACTCAGA	45	6106	6125	143
532745	1872	1891	Exón 12	TTGATTGAGTGTTTCTTGTC	42	6151	6170	144
532746	1878	1897	Exón 12	CTGACCTTGATTGAGTGTTCT	53	6157	6176	145
532747	1909	1928	Exón 13	TATCTCCAGGTCCCGCTTCT	31	6403	6422	146
532748	1967	1986	Exón 13	GAATTCCTGCTTCTTTTCTC	30	6461	6480	147
532749	1973	1992	Exón 13	ATTCAAGGAATTCCTGCTTCT	40	6467	6486	148
532750	1979	1998	Exón 13	CATAAAATTCAGGAATTCCT	45	6473	6492	149
532751	1985	2004	Exón 13	CATAGTCATAAAATTCAGGA	43	6479	6498	150
532752	2006	2025	Exón 13	TGAGCTTGATCAGGGCAACG	61	6500	6519	151
532753	2012	2031	Exón 13	TATTCTTGAGCTTGATCAGG	47	6506	6525	152
532754	2048	2067	Punto de unión de exón 13-14	GACAAATGGGCCTGATAGTC	35	np	np	153
532755	2070	2089	Exón 14	GTTGTTCCCTCGGTGCAGGG	43	6659	6678	154
532756	2076	2095	Exón 14	GCTCGAGTTGTTCCCTCGGT	51	6665	6684	155
532757	2082	2101	Exón 14	CTCAAAGCTCGAGTTGTTCC	36	6671	6690	156
532758	2088	2107	Exón 14	GGAAGCCTCAAAGCTCGAGT	54	6677	6696	157
532759	2094	2113	Exón 14	GTTGGAGGAAGCCTCAAAGC	52	6683	6702	158
532760	2100	2119	Exón 14	GTGCTAGTTGGAGGAAGCCT	22	6689	6708	159
532761	2106	2125	Exón 14	TGGCAAGTGGTAGTTGGAGG	34	6695	6714	160
532762	2112	2131	Exón 14	TGTTGCTGGCAAGTGGTAGT	52	6701	6720	161

#### Ejemplo 117: inhibición antisentido del factor B del complemento humano (CFB) en células HepG2 por gámperos MOE

- 5 Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del factor B del complemento humano (CFB) y se sometieron a prueba para determinar sus efectos sobre el ARNm de CFB *in vitro*. Los oligonucleótidos antisentido se sometieron a prueba en una serie de experimentos que tuvieron condiciones de cultivo similares. Los resultados de cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación.
- 10 Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 5.000 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

15 Los oligonucleótidos antisentido quiméricos recientemente diseñados en las tablas a continuación se diseñaron como gámperos 5-10-5 MOE. Los gámperos tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la

dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento de ala 5' y cada nucleósido en el segmento de ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gápmo son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gápmo son 5-metilcitosinas. "Sitio de inicio" indica el nucleósido más hacia 5' al que se dirige el gápmo en la secuencia génica humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más hacia 3' al que se dirige el gápmo en la secuencia génica humana. Cada gápmo enumerado en las tablas a continuación se dirige al ARNm de CFB humano, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 1 (n.º de acceso GENBANK NM\_001710.5) o bien a la secuencia genómica de CFB humano, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 2 (n.º de acceso GENBANK NT\_007592.15 troncada de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o a ambos, 'np' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100 % de complementariedad. En caso de que no se muestre la alineación de secuencias para un gen diana en una tabla particular, se entiende que ninguno de los oligonucleótidos presentados en esa tabla se alinea con un 100 % de complementariedad con ese gen diana.

**Tabla 130**

Inhibición de ARNm de CFB por gápmos 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	SEQ ID NO:
58857 0	150	169	Exón 1	TGGTCACATTCCCTTCCCCT	54	396
58857 1	152	171	Exón 1	CC*GGTCACATTCCCTTCCC	63	397
53261 4	154	173	Exón 1	GACCTGGTCACATTCCCTTC	64	12
58857 2	156	175	Exón 1	TAGACCTGGTCACATTCCCT	62	398
58857 3	158	177	Exón 1	CCTAGACCTGGTCACATTCC	53	399
58856 6	2189	2208	Exón 15	CCTTCCGAGTCAGCTTTTTC	60	400
58856 7	2191	2210	Exón 15	CTCCTTCCGAGTCAGCTTTT	61	401
53277 0	2193	2212	Exón 15	ACCTCCTTCCGAGTCAGCTT	77	198
58856 8	2195	2214	Exón 15	AGACCTCCTTCCGAGTCAGC	72	402
58856 9	2197	2216	Exón 15	GTAGACCTCCTTCCGAGTCA	46	403
58857 4	2453	2472	Exón 18	TTTGCCGCTTCTGGTTTTTG	46	404
58857 5	2455	2474	Exón 18	CTTTTGCCGCTTCTGGTTTT	41	405
53280 0	2457	2476	Exón 18	TGCTTTTGCCGCTTCTGGTT	69	228
58857 6	2459	2478	Exón 18	CCTGCTTTTGCCGCTTCTGG	61	406
58857 7	2461	2480	Exón 18	TACCTGCTTTTGCCGCTTCT	51	407
51635 0	2550	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTCATC	71	408
58850 9	2551	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTCAT	58	409
58851 0	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	57	410
58851 1	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	57	411
58851 2	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	44	412
58851 3	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	37	413
58851 4	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	50	414



N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	SEQ ID NO:
58851 5	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	45	415
58851 6	2558	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	60	416
58851 7	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	67	417
58851 8	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	57	418
58851 9	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	61	419
58852 0	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	27	420
58852 1	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	25	421
58852 2	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	36	422
58852 3	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	36	423
58852 4	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	46	424
58852 5	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	38	425
58852 6	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	47	426
58852 7	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	68	427
58852 8	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	63	428
53280 9	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	85	237
58852 9	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	76	429
58853 0	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	74	430
58853 1	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCC	75	431
58853 2	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	73	432
58853 3	2576	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACC	82	433
53281 0	2577	2596	Exón 18	GCCCCGTGTCCAGCAGGAAAC	88	238
58853 4	2578	2597	Exón 18	CGCCCCGTGTCCAGCAGGAAA	86	434
58853 5	2579	2598	Exón 18	ACGCCCCCTGTCCAGCAGGAA	86	435
58853 6	2580	2599	Exón 18	CACGCCCCCTGTCCAGCAGGA	93	436
58853 7	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCCCTGTCCAGCAGG	92	437
58853 8	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCCCTGTCCAGCAG	94	438
58853 9	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCCTGTCCAGCA	96	439
58854 0	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCCTGTCCAGC	88	440
58854 1	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCCTGTCCAG	79	441
58854 2	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCCTGTCCA	83	442

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	SEQ ID NO:
58854 3	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCCTGTCC	86	443
58854 4	2588	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCCTGTC	90	444
58854 5	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCCCTGT	92	445
58854 6	2590	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCCCTG	92	446
58854 7	2591	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCCCT	88	447
58854 8	2592	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCC	93	448
58854 9	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCCC	88	449
58855 0	2594	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	89	450
58855 1	2595	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCACGC	94	451
58855 2	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCACG	93	452
58855 3	2597	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCAC	96	453
58855 4	2598	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCCA	98	454
53281 1	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	97	239
53281 1	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	95	239
58855 5	2600	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATCC	93	455
58855 6	2601	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAATC	96	456
58855 7	2602	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAAT	98	457
58855 8	2603	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCAA	95	458
53291 7	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	97	317
58855 9	2605	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATTC	95	459
58856 0	2606	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTAATT	92	460
58856 1	2607	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTTAAT	93	461
53295 2	2608	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTTAA	88	395
58856 2	2609	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTTTAA	90	462
58856 3	2610	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTTCGCAGCTGTTTT	89	463
58856 4	2611	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTTCGCAGCTGTTT	92	464
58856 5	2612	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTTCGCAGCTGTT	88	465

Tabla 131

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
588685	np	np	Exón 1	GGATCCAGCTCACTCCCCCTG	48	1596	1615	466
588686	np	np	Exón 1	AAATAAGGATCCAGCTCACT	29	1602	np	467
588688	np	np	Exón 1	GACCAGAAATAAGGATCCAG	58	1608	1627	468
588690	np	np	Exón 1	CTTAGGGACCAGAAATAAGG	45	1614	1633	469
588692	np	np	Exón 1	CACCCACTTAGGGACCAGAA	36	1620	1639	470
588694	np	np	Exón 1	ACCACCCACTTAGGGACCAG	47	1622	1641	471
588696	np	np	Exón 1	AGGTCAGGACTCTCCCCCTT	96	1685	1704	472
588698	np	np	Exón 1	AAGCTTCAGGACTCTCCCCCT	96	1686	1705	473
588700	np	np	Exón 1	AAACTGCAGAACTCCCACCC	2	1716	1735	474
588586	30	49	Exón 1	GGAGGGCCCCGCTGAGCTGC	59	1751	1770	475
588587	48	67	Exón 1	TCCCGGAACATCCAAGCGGG	45	1769	1788	476
588588	56	75	Exón 1	CATCATTTCCTCGGAACATC	39	1777	np	477
588589	151	170	Exón 1	CTGGTCACATTCCTTCCTCC	29	1872	1891	478
588590	157	176	Exón 1	CTAGACCTGGTCACATTCCC	47	1878	1897	479
588591	339	358	Punto de unión de exón 1-2	GGAGTGGTGGTCACACCTCC	44	np	np	480
588592	384	403	Exón 2	ACCCCCCTCCAGAGAGCAGGA	43	2192	2211	481
588593	390	409	Exón 2	ATCTCTACCCCCCTCCAGAGA	34	2198	2217	482
588594	467	486	Exón 2	GGTACGGGTAGAAGCCAGAA	17	2275	2294	483
588595	671	690	Exón 3	GGAGAGTGTAAACCGTCATAG	37	2879	2898	484
588596	689	708	Exón 3	TGCGATGGCAGAGCCCCGG	18	2897	2916	485
588597	695	714	Exón 3	GCCAGGTGCGATTGGCAGAG	32	2903	2922	486
588598	707	726	Exón 3	GKXCATTCACTTGGCAGGTG	45	2915	2934	487
588599	738	757	Exón 3	TTGTCACAGATCGCTGTCTG	52	2946	2965	488
588600	924	943	Punto de unión de exón 4-5	AAGGAGTCTTGGCAGGAAGG	39	np	np	489
588601	931	950	Punto de unión de exón 4-5	GTACATGAAGGAGTCTTGGC	37	np	np	490
588602	959	978	Exón 5	AAGCTTCGGCCACCTCTTGA	21	3542	3561	491
588603	1089	1108	Exón 6	CCATCTAGCACCAGGTAGAT	22	3773	3792	492
588604	1108	1127	Exón 6	GGCCCCAATGCTGTCTGATC	21	3792	3811	493
588606	1150	1169	Exón 6	AATTAAGTTGACTAGACACT	56	3834	3853	494
588608	1162	1181	Punto de unión de exón 6-7	TGCCACCTTCTCAATTAAGT	50		19	495
588578	1167	1186	Punto de unión de exón 6-7	TAACTTGCCACCTTCTCAAT	23	np	np	496
588579	1169	1188	Punto de unión de exón 6-7	CATAACTTGCCACCTTCTCA	23	np	np	497
532692	1171	1190	Punto de unión de exón 6-7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	15	np	np	90
588580	1173	1192	Punto de unión de exón 6-7	ACACCATAACTTGCCACCTT	16	np	np	498
588581	1175	1194	Punto de unión de exón 6-7	TCACACCATAACTTGCCACC	14	4151	4170	499
588610	1319	1338	Exón 8	TAGTCCCTGACTTCAACTTG	50	4612	4631	500
588612	1325	1344	Exón 8	TGGTGTAGTCCCTGACTTC	47	4618	4637	501
588614	1396	1415	Exón 8	GCGGTTCAGCCTTCAGGAG	47	4689	4708	502
588616	1421	1440	Exón 8	TCATGAGGATGATGACATGG	51	4714	4733	503
588618	1446	1465	Exón 9	CCGCCCATGTTGTGCAATCC	18	5020	5039	504
588620	1458	1477	Exón 9	GTAATTGGGTCCCCGCCCAT	40	5032	5051	505
588623	1482	1501	Exón 9	AAGTCCCGGATCTCATCAAT	40	5056	5075	506
588624	1542	1561	Punto de unión de exón 9- 10	AACACATAGACATCCAGATA	45	np	np	507

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
588626	1585	1604	Exón 10	CAAAGCATTGATGTTCACTT	43	5234	5253	508
588628	1621	1640	Exón 10	TTTGAACACATGTTGCTCAT	45	5270	5289	509
588631	1646	1665	Exón 10	CTTCCAGGTTTCCATATCC	53	5295	5314	510
588632	1647	1666	Exón 10	TCTTCCAGGTTTCCATATC	56	5296	5315	511
588634	1689	1708	Exón 11	AGACTCAGAGACTGGCTTTC	35	5830	5849	512
588636	1749	1768	Exón 11	GCCTGCCATGGTTGCTTGTG	55	5890	5909	513
588638	1763	1782	Exón 11	TGACTGAGATCTTGGCCTGC	78	5904	5923	514
588640	1912	1931	Exón 13	TCTATCTCCAGGTCCCGCT	95	6406	6425	515
588642	1982	2001	Exón 13	AGTCATAAAATTCAGGAATT	44	6476	6495	516
588645	2073	2092	Exón 14	CGAGTTGTTCCCTCGGTGCA	40	6662	6681	517
588646	2085	2104	Exón 14	AGCCTCAAAGCTCGAGTTGT	57	6674	6693	518
588648	2091	2110	Exón 14	GGAGGAAGCCTCAAAGCTCG	48	6680	6699	519
588651	2097	2116	Exón 14	GTAGTTGGAGGAAGCCTCAA	40	6686	6705	520
588652	2103	2122	Exón 14	CAAGTGGTAGTTGGAGGAAG	43	6692	6711	521
588654	2166	2185	Exón 15	TCCTCAGACACAAACAGAGC	13	6954	6973	522
588656	2172	2191	Exón 15	TTCTCCTCCTCAGACACA AA	55	6960	6979	523
588658	2196	2215	Exón 15	TAGACCTCCTTCCGAGTCAG	44	6984	7003	524
588660	2202	2221	Exón 15	TTGATGTAGACCTCCTTCCG	50	6990	7009	525
588582	2219	2238	Punto de unión de exón 15- 16	CTTCTTAATCCCCATTCTTG	19	np	np	526
588583	2221	2240	Punto de unión de exón 15- 16	GCCTTCTTATCCCCATTCT	14	np	np	527
532775	2223	2242	Punto de unión de exón 15- 16	CTGCCCTTCTTATCCCCATT	3	np	np	203
588584	2225	2244	Punto de unión de exón 15- 16	AGCTGCCCTTCTTATCCCCA	18	np	np	528
588662	2226	2245	Punto de unión de exón 15- 16	CAGCTGCCCTTCTTATCCCC	27	np	np	529
588585	2227	2246	Punto de unión de exón 15- 16	ACAGCTGCCCTTCTTATCCC	59	np	np	530
588664	2238	2257	Exón 16	GCACTCTCTCACAGCTGCC	49	7122	7141	531
588666	2276	2295	Exón 16	AGATGTCCCTTGACTTTTGCA	41	7160	7179	532
588668	2330	2349	Exón 16	CAGCATAGGGACTCACTCCT	41	7214	7233	533
588670	2361	2380	Punto de unión de exón 16- 17	CCGCCAGAATCACCTCTGCA	43	np	np	534
588672	2397	2416	Exón 17	TGAATGAAACGACTTCTCTT	52	7362	7381	535
588674	2430	2449	Exón 18	ACATCCACTACTCCCCAGCT	39	7665	7684	536
588676	2448	2467	Exón 18	CGCTTCTGCTTTTTGCAGAC	69	7683	7702	537
588678	2454	2473	Exón 18	TTTTCGCCGCTTCTGGTTTTT	46	7689	7708	538
588680	2466	2485	Exón 18	GCAGGTACCTGCTTTTGGCG	47	7701	7720	539
588682	2532	2551	Exón 18	TCTTGGAGTTTCTCCTTCAG	58	7767	7786	540
532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTITTAATTCAAATCC	10	7834	7853	239
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTITTAATTC	11	7839	7858	317

**Ejemplo 118: inhibición antisentido del factor B del complemento humano (CFB) en células HepG2 por gámperos MOE**

- 5 Se diseñaron oligonucleótidos antisentido dirigidos al ácido nucleico del factor B del complemento humano (CFB) y se sometieron a prueba para determinar sus efectos sobre el ARNm de CFB *in vitro*. Los oligonucleótidos antisentido se sometieron a prueba en una serie de experimentos que tuvieron condiciones de cultivo similares.

Los resultados de cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 3.000 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos recientemente diseñados en las tablas a continuación se diseñaron como gápmers 4-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 3-10-4 MOE, 3-10-7 MOE, 6-7-6- MOE, 6-8-6 MOE o 5-7-5 MOE, o como oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt.

Los gápmers 4-8-5 MOE tienen una longitud de 17 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cuatro y cinco nucleósidos respectivamente. Los gápmers 5-9-5 MOE tienen una longitud de 19 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende nueve 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmers 5-10-5 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmers 5-7-5 MOE tienen una longitud de 17 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende siete 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmers 3-10-4 MOE tienen una longitud de 17 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden tres y cuatro nucleósidos respectivamente. Los gápmers 3-10-7 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden tres y siete nucleósidos respectivamente. Los gápmers 6-7-6 MOE tienen una longitud de 19 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende siete 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden seis nucleósidos cada uno. Los gápmers 6-8-6 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden seis nucleósidos cada uno. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gápmers son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gápmers son 5-metilcitosinas.

Los oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt tienen una longitud de 16 nucleósidos en los que el nucleósido tiene una modificación glucídica MOE, una modificación glucídica (S)-cEt o bien una modificación desoxi. La columna 'Química' describe las modificaciones glucídicas de cada oligonucleótido, 'k' indica una modificación glucídica (S)-cEt; 'd' indica desoxirribosa; y 'e' indica una modificación MOE.

"Sitio de inicio" indica el nucleósido más hacia 5' al que se dirige el gápmers en la secuencia génica humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más hacia 3' al que se dirige el gápmers en la secuencia génica humana. Cada gápmers enumerado en las tablas a continuación se dirige al ARNm de CFB humano, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 1 (n.º de acceso GENBANK NM\_001710.5) o bien a la secuencia genómica de CFB humano, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 2 (n.º de acceso GENBANK NT\_007592.15 truncada de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o a ambos, 'np' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100 % de complementariedad.

**Tabla 132**

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada a SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada a SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	10	7834	7853	ccccckdddddckccccc	239
588884	48	63	Exón 1	GCAACATCAACCGCC	79	1769	1784	ccckdddddckddckck	541
588872	154	169	Exón 1	TGCTCACATTCCTTC	91	1875	1890	ccckdddddckddckck	542
588873	156	171	Exón 1	CTCTGCACATTCCTT	91	1877	1892	ccckdddddckddckck	543
588874	158	173	Exón 1	GACCTGGGCACATTC	91	1879	1894	ccckdddddckddckck	544
588878	1171	1186	Punto de unión de exón 6-7	TAACTTGCCACCTTCT	92	np	np	ccckdddddckddckck	545

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
588879	1173	1188	Punto de unión de exón 6-7	CATAACTTGGCACTT	94	np	np	eeekdddddiddiddike	546
588880	1175	1190	Punto de unión de exón 6-7	ACCATAACTTGGCACC	89	4151	4166	eeekdddddiddiddike	547
588869	2193	2208	Exón 15	CTTTCGGAGTCACTT	17	6981	6996	eeekdddddiddiddike	548
588870	2195	2210	Exón 15	CTTTCGGAGTCACTT	78	6983	6998	eeekdddddiddiddike	549
588871	2197	2212	Exón 15	ACTTCTTTCGAGTCA	80	6985	7000	eeekdddddiddiddike	550
588881	2223	2238	Punto de unión de exón 15-16	CTTTCCTTATCCCAT	93	np	np	eeekdddddiddiddike	551
588882	2225	2240	Punto de unión de exón 15-16	GCCTTCTTATCCCA	88	np	np	eeekdddddiddiddike	552
588883	2227	2242	Punto de unión de exón 15-16	CTTCTTCTTATCC	90	np	np	eeekdddddiddiddike	553
588875	2457	2472	Exón 18	TTTCCCGCTTCTGTT	81	7692	7707	eeekdddddiddiddike	554
588876	2459	2474	Exón 18	CTTTCGGCTTCTGTT	95	7694	7709	eeekdddddiddiddike	555
588877	2461	2476	Exón 18	TGCTTTTGGCGCTTCT	91	7696	7711	eeekdddddiddiddike	556
588807	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCTCAT	82	7786	7801	eeekdddddiddiddike	557
588808	2553	2568	Exón 18	GAAACCTCAATCTCT	69	7788	7803	eeekdddddiddiddike	558
588809	2555	2570	Exón 18	TAGAAAATCAATCTC	51	7790	7805	eeekdddddiddiddike	559
588810	2556	2571	Exón 18	ATAGAAAATCAATCT	23	7791	7806	eeekdddddiddiddike	560
588811	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAATCA	13	7794	7809	eeekdddddiddiddike	561
588812	2560	2575	Exón 18	CTTATAGAAAATCA	29	7795	7810	eeekdddddiddiddike	562
588813	2561	2576	Exón 18	CCTTATAGAAAATCA	53	7796	7811	eeekdddddiddiddike	563
588814	2562	2577	Exón 18	CTTCTTATAGAAAAT	86	7797	7812	eeekdddddiddiddike	564
588815	2563	2578	Exón 18	ACCTCTTATAGAAAAT	76	7798	7813	eeekdddddiddiddike	565
588816	2564	2579	Exón 18	AACCTCTTATAGAAA	33	7799	7814	eeekdddddiddiddike	566
588817	2565	2580	Exón 18	AAACCTCTTATAGAAA	48	7800	7815	eeekdddddiddiddike	567
588818	2566	2581	Exón 18	GAAACCTCTTATAGAA	44	7801	7816	eeekdddddiddiddike	568
588819	2567	2582	Exón 18	GGAAACCTCTTATAGA	74	7802	7817	eeekdddddiddiddike	569
588820	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCTCTTATAG	68	7803	7818	eeekdddddiddiddike	570
588821	2569	2584	Exón 18	CGGAAACCTCTTATAG	45	7804	7819	eeekdddddiddiddike	571
588822	2570	2585	Exón 18	GCAGCAACCTCTTAT	50	7805	7820	eeekdddddiddiddike	572
588823	2571	2586	Exón 18	AGCAGCAACCTCTTAT	54	7806	7821	eeekdddddiddiddike	573
588824	2572	2587	Exón 18	CAGCAGCAACCTCTT	35	7807	7822	eeekdddddiddiddike	574
588825	2573	2588	Exón 18	CCAGCAGCAACCTCT	11	7808	7823	eeekdddddiddiddike	575
588826	2574	2589	Exón 18	CCAGCAGCAACCTCT	19	7809	7824	eeekdddddiddiddike	576
588827	2575	2590	Exón 18	GCAGCAGCAACCTCT	42	7810	7825	eeekdddddiddiddike	577
588828	2576	2591	Exón 18	TGTCAGCAGCAACCT	0	7811	7826	eeekdddddiddiddike	578
588829	2577	2592	Exón 18	CTGTCAGCAGCAAC	49	7812	7827	eeekdddddiddiddike	579
588830	2578	2593	Exón 18	CTGTCAGCAGCAAC	11	7813	7828	eeekdddddiddiddike	580
588831	2579	2594	Exón 18	CCCTGCTCAGCAGGAA	20	7814	7829	eeekdddddiddiddike	581
588832	2580	2595	Exón 18	CCCTGCTCAGCAGGAA	19	7815	7830	eeekdddddiddiddike	582
588833	2581	2596	Exón 18	CCCTGCTCAGCAGGAA	12	7816	7831	eeekdddddiddiddike	583
588834	2582	2597	Exón 18	CGCTCTGCTCAGCAG	10	7817	7832	eeekdddddiddiddike	584
588835	2583	2598	Exón 18	ACCTCTGCTCAGCAG	13	7818	7833	eeekdddddiddiddike	585
588836	2584	2599	Exón 18	CATCTCTGCTCAGCAG	13	7819	7834	eeekdddddiddiddike	586
588837	2585	2600	Exón 18	CCAGCTCTGCTCAGCAG	39	7820	7835	eeekdddddiddiddike	587
588838	2586	2601	Exón 18	CCAGCTCTGCTCAGCAG	54	7821	7836	eeekdddddiddiddike	588
588839	2587	2602	Exón 18	TCTCAGCTCTGCTCAG	51	7822	7837	eeekdddddiddiddike	589
588840	2588	2603	Exón 18	ATCTCAGCTCTGCTCAG	65	7823	7838	eeekdddddiddiddike	590
588841	2589	2604	Exón 18	ATCTCAGCTCTGCTCAG	59	7824	7839	eeekdddddiddiddike	591
588842	2590	2605	Exón 18	CAATCTCAGCTCTGCT	70	7825	7840	eeekdddddiddiddike	592
588843	2591	2606	Exón 18	TCAATCTCAGCTCTGCT	0	7826	7841	eeekdddddiddiddike	593
588844	2592	2607	Exón 18	TCAATCTCAGCTCTGCT	48	7827	7842	eeekdddddiddiddike	594



N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
588845	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCACGGCC	46	7828	7843	eeekddddddeedkce	595
588846	2594	2609	Exón 18	AATTCATCCACGGCC	67	7829	7844	eeekddddddeedkce	596
588847	2595	2610	Exón 18	TAATTCATCCACGGC	75	7830	7845	eeekddddddeedkce	597
588848	2596	2611	Exón 18	TTAATTCATCCACGG	76	7831	7846	eeekddddddeedkce	598
588849	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCATCCAC	94	7832	7847	eeekddddddeedkce	599
588850	2598	2613	Exón 18	TTTAAATTCATCC	91	7833	7848	eeekddddddeedkce	600
588851	2599	2614	Exón 18	GT TAAATTCATCC	91	7834	7849	eeekddddddeedkce	601
588852	2600	2615	Exón 18	TGTTTAAATTCAC	78	7835	7850	eeekddddddeedkce	602
588853	2601	2616	Exón 18	CTGT TTAATTCATC	81	7836	7851	eeekddddddeedkce	603
588854	2602	2617	Exón 18	GC GTTTTAATTCAT	63	7837	7852	eeekddddddeedkce	604
588855	2603	2618	Exón 18	AGCTGT TTAATTCAA	65	7838	7853	eeekddddddeedkce	605
588856	2604	2619	Exón 18	CAGCTGT TTAATTC	76	7839	7854	eeekddddddeedkce	606
588857	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGT TTAATTC	89	7840	7855	eeekddddddeedkce	607
588858	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGT TTAAT	89	7841	7856	eeekddddddeedkce	608
588859	2607	2622	Exón 18	TGCGAGCTGT TTAAT	89	7842	7857	eeekddddddeedkce	609
588860	2608	2623	Exón 18	GTGCGAGCTGT TTA	76	7843	7858	eeekddddddeedkce	610
588861	2609	2624	Exón 18	TGTGCGAGCTGT TTA	87	7844	7859	eeekddddddeedkce	611
588862	2610	2625	Exón 18	TTGTCGCGAGCTGT	85	7845	7860	eeekddddddeedkce	612
588863	2611	2626	Exón 18	GTGTCGCGAGCTGT	87	7846	7861	eeekddddddeedkce	613
588864	2612	2627	Exón 18	TGTGTGCGAGCTGT	67	7847	7862	eeekddddddeedkce	614
588865	2613	2628	Exón 18	TTGTGTGCGAGCTGT	51	np	np	eeekddddddeedkce	615
588866	2614	2629	Exón 18	TTTGTGTGCGAGCTGT	95	np	np	eeekddddddeedkce	616
588867	2615	2630	Exón 18	TTTGTGTGCGAGCT	92	np	np	eeekddddddeedkce	617
588868	2616	2631	Exón 18	TTTGTGTGCGAGC	66	np	np	eeekddddddeedkce	618

Tabla 133

Inhibición de ARNm de CFB por gámperos 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
588685	np	np	Exón 1	GGATCCAGCTCACTCCCCTG	14	1596	1615	466
588686	np	np	Exón 1	AAATAAGGATCCAGCTCACT	2	1602	1621	467
588688	np	np	Exón 1	GACCAGAAATAAGGATCCAG	3	1608	1627	468
588690	np	np	Exón 1	CTTAGGGACCAGAAATAAGG	10	1614	1633	469
588692	np	np	Exón 1	CACCCACTTAGGGACCAGAA	23	1620	1639	470
588694	np	np	Exón 1	ACCACCCACTTAGGGACCAG	23	1622	1641	471
588696	np	np	Exón 1	AGGTCCAGGACTCTCCCCCT	15	1685	1704	472
588698	np	np	Exón 1	AAGGTCCAGGACTCTCCCCCT	19	1686	1705	473
588700	np	np	Exón 1	AAACTGCAGAAGTCCCACCC	16	1716	1735	474
588586	30	49	Exón 1	GGAGGGCCCCGCTGAGCTGC	11	1751	1770	475
588587	48	67	Exón 1	TCCCCGAACATCCAAGCGGG	14	1769	1788	476
588588	56	75	Exón 1	CATCACTTTCCCCGGAACATC	18	1777	1796	477

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5885 89	151	170	Exón 1	CTGGTCACATTCCCTTCCCC	59	1872	1891	478
5885 90	157	176	Exón 1	CTAGACCTGGTCACATTCCC	59	1878	1897	479
5885 91	339	358	Punto de unión de exón 1- 2	GGAGTGGTGGTCACACCTCC	45	np	np	480
5885 92	384	403	Exón 2	ACCCCCCTCCAGAGAGCAGGA	39	2192	2211	481
5885 93	390	409	Exón 2	ATCTCTACCCCTCCAGAGA	29	2198	2217	482
5885 94	467	486	Exón 2	GGTACGGGTAGAAGCCAGAA	47	2275	2294	483
5885 95	671	690	Exón 3	GGAGAGTGTAACCGTCATAG	44	2879	2898	484
5885 96	689	708	Exón 3	TGCGATTGGCAGAGCCCCGG	43	2897	2916	638
5885 97	695	714	Exón 3	GCCAGGTCGGATTGGCAGAG	34	2903	2922	486
5885 98	707	726	Exón 3	GGCCATTACCTTGGCAGGTG	17	2915	2934	487
5885 99	738	757	Exón 3	TTGTCACAGATCGCTGTCTG	37	2946	2965	488
5886 00	924	943	Punto de unión de exón 3- 4	AAGGAGTCTTGGCAGGAAGG	18	np	np	489
5886 01	931	950	Punto de unión de exón 3- 4	GTACATGAAGGAGTCTTGGC	32	np	np	490
5886 02	959	978	Exón 5	AAGCTTCGGCCACCTCTTGA	45	3542	3561	491
5886 03	1089	1108	Exón 6	CCATCTAGCACCAGGTAGAT	52	3773	3792	492
5886 04	1108	1127	Exón 6	GGCCCCAATGCTGTCTGATC	39	3792	3811	493
5886 06	1150	1169	Exón 6	AATTAAGTTGACTAGACACT	37	3834	3853	494
5886 08	1162	1181	Punto de unión de exón 6- 7	TGCCACCTTCTCAATTAAAGT	21	np	np	648
5885 78	1167	1186	Punto de unión de exón 6- 7	TAACTTGCCACCTTCTCAAT	22	np	np	496



N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5885 79	1169	1188	Punto de unión de exón 6- 7	CATAACTTGCCACCTTCTCA	21	np	np	497
5326 92	1171	1190	Punto de unión de exón 6- 7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	56	np	np	90
5885 80	1173	1192	Punto de unión de exón 6- 7	ACACCATAACTTGCCACCTT	50	np	np	498
5885 81	1175	1194	Exón 7	TCACACCATAACTTGCCACC	50	4151	4170	499
5886 10	1319	1338	Exón 8	TAGTCCCTGACTTCAACTTG	47	4612	4631	500
5886 12	1325	1344	Exón 8	TGGTGTAGTCCCTGACTTC	47	4618	4637	501
5886 14	1396	1415	Exón 8	GCGGTTCCAGCCTTCAGGAG	51	4689	4708	502
5886 16	1421	1440	Exón 8	TCATGAGGATGATGACATGG	18	4714	4733	503
5886 18	1446	1465	Exón 9	CCGCCCCATGTTGTGCAATCC	40	5020	5039	504
5886 20	1458	1477	Exón 9	GTAATTGGGTCCCCGCCCAT	40	5032	5051	505
5886 23	1482	1501	Exón 9	AAGTCCCGGATCTCATCAAT	45	5056	5075	506
5886 24	1542	1561	Punto de unión de exón 9- 10	AACACATAGACATCCAGATA	43	np	np	507
5886 26	1585	1604	Exón 10	CAAAGCATTGATGTTCACCTT	45	5234	5253	508
5886 28	1621	1640	Exón 10	TTTGAACACATGTTGCTCAT	53	5270	5289	509
5886 31	1646	1665	Exón 10	CTTCCAGGTTTTCCATATCC	56	5295	5314	510
5886 32	1647	1666	Exón 10	TCTTCCAGGTTTTCCATATC	35	5296	5315	511
5886 34	1689	1708	Exón 11	AGACTCAGAGACTGGCTTTC	55	5830	5849	512
5886 36	1749	1768	Exón 11	GCCTGCCATGGITGCTGTG	78	5890	5909	513
5886 38	1763	1782	Exón 11	TGACTGAGATCTTGGCCTGC	95	5904	5923	514
5886 40	1912	1931	Exón 13	TTCTATCTCCAGGTCCCGCT	44	6406	6425	515
5886 42	1982	2001	Exón 13	AGTCATAAAATTCAGGAATT	40	6476	6495	516

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5886 45	2073	2092	Exón 14	CGAGTGTGTTCCCTCGGTGCA	57	6662	6681	517
5886 46	2085	2104	Exón 14	AGCCTCAAAGCTCGAGTGT	48	6674	6693	518
5886 48	2091	2110	Exón 14	GGAGGAAGCCTCAAAGCTCG	40	6680	6699	519
5886 51	2097	2116	Exón 14	GTAGTTGGAGGAAGCCTCAA	43	6686	6705	520
5886 52	2103	2122	Exón 14	CAAGTGGTAGTTGGAGGAAG	13	6692	6711	521
5886 54	2166	2185	Exón 15	TCTTCAGACACAAACAGAGC	55	6954	6973	522
5886 56	2172	2191	Exón 15	TTCTCTCTCTCAGACACAAA	44	6960	6979	523
5886 58	2196	2215	Exón 15	TAGACCTCTCTCCGAGTTCAG	50	6984	7003	524
5886 60	2202	2221	Exón 15	TTGATGTAGACCTCTCTCCG	27	6990	7009	525
5885 82	2219	2238	Punto de unión de exón 15-16	CTTTCTTATCCCCATTCTTG	49	np	np	526
5885 83	2221	2240	Punto de unión de exón 15-16	GCCTTTCTTATCCCCATTCT	41	np	np	527
5327 75	2223	2242	Punto de unión de exón 15-16	CTGCCCTTTCTTATCCCCATT	41	np	np	203
5885 84	2225	2244	Punto de unión de exón 15-16	AGCTGCCCTTTCTTATCCCCA	43	np	np	528
5886 62	2226	2245	Punto de unión de exón 15-16	CAGCTGCCCTTTCTTATCCCC	52	np	np	529
5885 85	2227	2246	Punto de unión de exón 15-16	ACAGCTGCCCTTTCTTATCCC	39	np	np	530
5886 64	2238	2257	Exón 16	GCATCTCTCTCACAGCTGCC	69	7122	7141	531
5886 66	2276	2295	Exón 16	AGATGTCCTTGACTTTGTCA	46	7160	7179	532

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
5886 68	2330	2349	Exón 16	CAGCATAGGGACTCACTCCT	47	7214	7233	533
5886 70	2361	2380	Punto de unión de exón 16-17	CCGCCAGAATCACCTCTGCA	58	np	np	534
5886 72	2397	2416	Exón 17	IGAATGAAACGACTTCTCTT	48	7362	7381	535
5886 74	2430	2449	Exón 18	ACATCCACTACTCCCCAGCT	29	7665	7684	536
5886 76	2448	2467	Exón 18	CGCTTCTGGTTTTTGCAGAC	58	7683	7702	537
5886 78	2454	2473	Exón 18	TTTTGCCGCTTCTGGTTTTT	45	7689	7708	538
5886 80	2466	2485	Exón 18	GCAGGTACCTGCTTTTGCCG	36	7701	7720	539
5886 82	2532	2551	Exón 18	TCTTGGAGTTTCTCCTTCAG	47	7767	7786	540
5328 11	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	96	7834	7853	239
5329 17	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	96	7839	7858	317

Tabla 134

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SE Q ID NO:
598973	2552	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTCA	40	7787	7803	3-10-4	619
599036	2552	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTCA	18	7787	7803	5-7-5	619
598974	2553	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTC	28	7788	7804	3-10-4	620
599037	2553	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTC	19	7788	7804	5-7-5	620
598975	2554	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCT	15	7789	7805	3-10-4	621
599038	2554	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCT	32	7789	7805	5-7-5	621
598976	2555	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCC	12	7790	7806	3-10-4	622
599039	2555	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCC	7	7790	7806	5-7-5	622
598977	2557	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAAT	13	7792	7808	3-10-4	623
599040	2557	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAAT	13	7792	7808	5-7-5	623
598978	2558	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7809	3-10-4	624
599041	2558	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7809	5-7-5	624
598979	2559	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAA	8	7794	7810	3-10-4	625
599042	2559	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAA	19	7794	7810	5-7-5	625
598980	2560	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCA	42	7795	7811	3-10-4	626
599043	2560	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCA	10	7795	7811	5-7-5	626
598981	2561	2577	Exón 18	CCCCCTTATAGAAAACCC	20	7796	7812	3-10-4	627
599044	2561	2577	Exón 18	CCCCCTTATAGAAAACCC	12	7796	7812	5-7-5	627
598982	2562	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACC	10	7797	7813	3-10-4	628
599045	2562	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACC	3	7797	7813	5-7-5	628
598983	2563	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAAC	0	7798	7814	3-10-4	629
599046	2563	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAAC	18	7798	7814	5-7-5	629
598984	2564	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAA	0	7799	7815	3-10-4	630
599047	2564	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAA	7	7799	7815	5-7-5	630
598985	2565	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAA	0	7800	7816	3-10-4	631

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SE Q ID NO:
599048	2565	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAA	9	7800	7816	5-7-5	631
598986	2566	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7817	3-10-4	632
599049	2566	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAA	18	7801	7817	5-7-5	632
598988	2567	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7818	3-10-4	633
599050	2567	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGA	8	7802	7818	5-7-5	633
598989	2568	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAG	0	7803	7819	3-10-4	634
598990	2569	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATA	8	7804	7820	3-10-4	635
598991	2570	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTAT	25	7805	7821	3-10-4	636
598992	2571	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTA	12	7806	7822	3-10-4	637
598993	2572	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTT	37	7807	7823	3-10-4	638
598994	2573	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCT	29	7808	7824	3-10-4	639
598995	2574	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCC	42	7809	7825	3-10-4	640
598996	2575	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCC	36	7810	7826	3-10-4	641
598997	2576	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	18	7811	7827	3-10-4	642
598998	2577	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	27	7812	7828	3-10-4	643
598999	2578	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	61	7813	7829	3-10-4	644
599000	2580	2596	Exón 18	GCCCCCTGTCCAGCAGGA	71	7815	7831	3-10-4	645
599001	2581	2597	Exón 18	CGCCCCCTGTCCAGCAGG	80	7816	7832	3-10-4	646
599002	2582	2598	Exón 18	ACGCCCCCTGTCCAGCAG	68	7817	7833	3-10-4	647
599003	2583	2599	Exón 18	CACGCCCCCTGTCCAGCA	71	7818	7834	3-10-4	648
599004	2584	2600	Exón 18	CCACGCCCCCTGTCCAGC	76	7819	7835	3-10-4	649
599005	2585	2601	Exón 18	CCCACGCCCCCTGTCCAG	70	7820	7836	3-10-4	650
599006	2586	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCCTGTCCA	65	7821	7837	3-10-4	651
599007	2587	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCCTGTCC	60	7822	7838	3-10-4	652
599008	2588	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCCTGTC	72	7823	7839	3-10-4	653
599009	2589	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCCTGT	79	7824	7840	3-10-4	654
599010	2590	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCCTG	73	7825	7841	3-10-4	655
599011	2591	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCCT	79	7826	7842	3-10-4	656
599012	2592	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCC	67	7827	7843	3-10-4	657
599013	2593	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCC	65	7828	7844	3-10-4	658
599014	2594	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCC	74	7829	7845	3-10-4	659
599015	2595	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGC	71	7830	7846	3-10-4	660
599016	2596	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACG	48	7831	7847	3-10-4	661
599017	2597	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCAC	34	7832	7848	3-10-4	662
599018	2598	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCA	56	7833	7849	3-10-4	663
599019	2599	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCC	60	7834	7850	3-10-4	664
599020	2600	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCC	0	7835	7851	3-10-4	665
599021	2601	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATC	33	7836	7852	3-10-4	666
599022	2602	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAAT	17	7837	7853	3-10-4	667
599023	2603	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAA	52	7838	7854	3-10-4	668
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAATTCA	86	7839	7858	5-10-5	317
599024	2604	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTAAATTC	88	7839	7855	3-10-4	669
599025	2605	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATTC	85	7840	7856	3-10-4	670
599026	2606	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAATT	69	7841	7857	3-10-4	671
599027	2607	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAAT	77	7842	7858	3-10-4	672
599028	2608	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	73	7843	7859	3-10-4	673
599029	2609	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTAA	78	7844	7860	3-10-4	674
599030	2610	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTT	75	7845	7861	3-10-4	675
599031	2611	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTT	77	7846	7862	3-10-4	676
599032	2612	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTT	79	np	np	3-10-4	677
599033	2613	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTCGCAGCTGTT	80	np	np	3-10-4	678

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599034	2614	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTG	78	np	np	3-10-4	679
599035	2615	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTCGCAGCT	63	np	np	3-10-4	680

**Tabla 135**

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599098	2552	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTCA	57	7787	7803	4-8-5	619
599099	2553	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTC	33	7788	7804	4-8-5	620
599100	2554	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCT	32	7789	7805	4-8-5	621
599101	2555	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCC	47	7790	7806	4-8-5	622
599102	2557	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAAT	59	7792	7808	4-8-5	623
599103	2558	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAA	10	7793	7809	4-8-5	624
599104	2559	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAA	3	7794	7810	4-8-5	625
599105	2560	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCA	45	7795	7811	4-8-5	626
599106	2561	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCC	49	7796	7812	4-8-5	627
599107	2562	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACC	35	7797	7813	4-8-5	628
599108	2563	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAAC	17	7798	7814	4-8-5	629
599109	2564	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAA	36	7799	7815	4-8-5	630
599110	2565	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAA	20	7800	7816	4-8-5	631
599111	2566	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAA	20	7801	7817	4-8-5	632
599112	2567	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGA	15	7802	7818	4-8-5	633
599113	2568	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAG	19	7803	7819	4-8-5	634
599051	2568	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAG	26	7803	7819	5-7-5	634
599114	2569	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATA	18	7804	7820	4-8-5	635
599052	2569	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATA	21	7804	7820	5-7-5	635
599115	2570	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTAT	31	7805	7821	4-8-5	636
599053	2570	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTAT	25	7805	7821	5-7-5	636
599116	2571	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTA	39	7806	7822	4-8-5	637
599054	2571	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTA	36	7806	7822	5-7-5	637

ES 2 941 742 T3

N.º ISI S	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibició n	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SE Q ID NO:
599 117	2572	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTT	46	7807	7823	4-8-5	638
599 055	2572	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTT	22	7807	7823	5-7-5	638
599 118	2573	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCT	40	7808	7824	4-8-5	639
599 056	2573	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCT	32	7808	7824	5-7-5	639
599 119	2574	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCC	50	7809	7825	4-8-5	640
599 057	2574	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCC	46	7809	7825	5-7-5	640
599 120	2575	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCC	30	7810	7826	4-8-5	641
599 058	2575	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCC	52	7810	7826	5-7-5	641
599 121	2576	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	31	7811	7827	4-8-5	642
599 059	2576	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	24	7811	7827	5-7-5	642
599 122	2577	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	23	7812	7828	4-8-5	643
599 060	2577	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	37	7812	7828	5-7-5	643
599 123	2578	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	51	7813	7829	4-8-5	644
599 061	2578	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	34	7813	7829	5-7-5	644
599 124	2580	2596	Exón 18	GCCCCCTGTCCAGCAGGA	56	7815	7831	4-8-5	645
599 062	2580	2596	Exón 18	GCCCCCTGTCCAGCAGGA	51	7815	7831	5-7-5	645
599 125	2581	2597	Exón 18	CGCCCCCTGTCCAGCAGG	70	7816	7832	4-8-5	646
599 063	2581	2597	Exón 18	CGCCCCCTGTCCAGCAGG	56	7816	7832	5-7-5	646
599 126	2582	2598	Exón 18	ACGCCCCCTGTCCAGCAG	76	7817	7833	4-8-5	647
599 064	2582	2598	Exón 18	ACGCCCCCTGTCCAGCAG	61	7817	7833	5-7-5	647
599 127	2583	2599	Exón 18	CACGCCCCCTGTCCAGCA	67	7818	7834	4-8-5	648
599 065	2583	2599	Exón 18	CACGCCCCCTGTCCAGCA	64	7818	7834	5-7-5	648
599 066	2584	2600	Exón 18	CCACGCCCCCTGTCCAGC	40	7819	7835	5-7-5	649
599 067	2585	2601	Exón 18	CCCACGCCCCCTGTCCAG	37	7820	7836	5-7-5	650
599 068	2586	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCCTGTCCA	31	7821	7837	5-7-5	651
599 069	2587	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCCTGTCC	39	7822	7838	5-7-5	652
599 070	2588	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCCTGTC	59	7823	7839	5-7-5	653
599 071	2589	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCCTGT	63	7824	7840	5-7-5	657
599 072	2590	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCCTG	74	7825	7841	5-7-5	655
599 073	2591	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCCT	53	7826	7842	5-7-5	656
599 074	2592	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCC	56	7827	7843	5-7-5	657
599 075	2593	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCC	49	7828	7844	5-7-5	658
599 076	2594	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCC	54	7829	7845	5-7-5	659

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SE Q ID NO:
599 077	2595	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGC	79	7830	7846	5-7-5	660
599 078	2596	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACG	67	7831	7847	5-7-5	661
599 079	2597	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCAC	69	7832	7848	5-7-5	662
599 080	2598	2614	Exón 18	GTTTAATTCAATCCCA	79	7833	7849	5-7-5	663
599 081	2599	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCC	57	7834	7850	5-7-5	664
599 082	2600	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCC	50	7835	7851	5-7-5	665
599 083	2601	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATC	67	7836	7852	5-7-5	666
599 084	2602	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAAT	60	7837	7853	5-7-5	667
599 085	2603	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAA	71	7838	7854	5-7-5	668
532 917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC	82	7839	7858	5-10-5	317
599 086	2604	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCA	81	7839	7855	5-7-5	669
599 087	2605	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTC	88	7840	7856	5-7-5	670
599 088	2606	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATT	84	7841	7857	5-7-5	671
599 089	2607	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT	81	7842	7858	5-7-5	672
599 090	2608	2624	Exón 18	TGTTCGCAGCTGTTTTAA	77	7843	7859	5-7-5	673
599 091	2609	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTA	74	7844	7860	5-7-5	674
599 092	2610	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTT	66	7845	7861	5-7-5	675
599 093	2611	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTT	89	7846	7862	5-7-5	676
599 094	2612	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTT	82	np	np	5-7-5	677
599 095	2613	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTGTTCGCAGCTGT	87	np	np	5-7-5	678
599 096	2614	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTTCGCAGCTG	85	np	np	5-7-5	679
599 097	2615	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTGTTCGCAGCT	78	np	np	5-7-5	680

Tabla 136

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SE Q ID NO:
599 510	2552	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTCA	45	7787	7805	5-9-5	681

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SE Q ID NO:
599 331	2553	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTC	46	7788	7806	5-9-5	682
599 332	2554	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCT	38	7789	7807	5-9-5	683
599 333	2556	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATC	1	7791	7809	5-9-5	684
599 334	2557	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAAT	5	7792	7810	5-9-5	685
599 335	2558	2576	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	34	7793	7811	5-9-5	686
599 336	2559	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA	40	7794	7812	5-9-5	687
599 337	2560	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCA	39	7795	7813	5-9-5	688
599 338	2561	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCC	57	7796	7814	5-9-5	689
599 339	2562	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACC	26	7797	7815	5-9-5	690
599 281	2562	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACC	15	7797	7815	6-7-6	690
599 340	2563	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAAC	17	7798	7816	5-9-5	691
599 282	2563	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAAC	12	7798	7816	6-7-6	691
599 341	2564	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAA	23	7799	7817	5-9-5	692
599 283	2564	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAA	18	7799	7817	6-7-6	692
599 342	2565	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA	10	7800	7818	5-9-5	693
599 284	2565	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA	14	7800	7818	6-7-6	693
599 343	2566	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAA	10	7801	7819	5-9-5	694
599 285	2566	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAA	13	7801	7819	6-7-6	694
599 344	2567	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGA	22	7802	7820	5-9-5	695
599 286	2567	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGA	31	7802	7820	6-7-6	695
599 345	2568	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAG	19	7803	7821	5-9-5	696
599 287	2568	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAG	12	7803	7821	6-7-6	696
599 346	2569	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATA	30	7804	7822	5-9-5	697
599 288	2569	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATA	28	7804	7822	6-7-6	697
599 347	2570	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTAT	46	7805	7823	5-9-5	698
599 289	2570	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTAT	32	7805	7823	6-7-6	698
599 348	2571	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTA	44	7806	7824	5-9-5	699
599 290	2571	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTA	24	7806	7824	6-7-6	699
599 349	2572	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTT	60	7807	7825	5-9-5	700
599 291	2572	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTT	38	7807	7825	6-7-6	700
599 350	2573	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCT	49	7808	7826	5-9-5	701
599 292	2573	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCT	35	7808	7826	6-7-6	701



ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SE Q ID NO:
599 351	2575	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC	46	7810	7828	5-9-5	702
599 293	2575	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC	12	7810	7828	6-7-6	702
599 352	2576	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACC	49	7811	7829	5-9-5	703
599 294	2576	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACC	38	7811	7829	6-7-6	703
599 353	2577	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAAC	64	7812	7830	5-9-5	704
599 295	2577	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAAC	33	7812	7830	6-7-6	704
599 354	2578	2596	Exón 18	CCCCCTGTCCAGCAGGAAA	56	7813	7831	5-9-5	705
599 296	2578	2596	Exón 18	CCCCCTGTCCAGCAGGAAA	13	7813	7831	6-7-6	705
599 355	2580	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGA	81	7815	7833	5-9-5	706
599 297	2580	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGA	57	7815	7833	6-7-6	706
599 356	2581	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGG	64	7816	7834	5-9-5	707
599 298	2581	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGG	39	7816	7834	6-7-6	707
599 299	2582	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAG	55	7817	7835	6-7-6	708
599 300	2583	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCA	45	7818	7836	6-7-6	709
599 301	2584	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGC	39	7819	7837	6-7-6	710
599 302	2585	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAG	27	7820	7838	6-7-6	711
599 303	2586	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCA	35	7821	7839	6-7-6	712
599 304	2587	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCC	16	7822	7840	6-7-6	713
599 305	2588	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	41	7823	7841	6-7-6	714
599 306	2589	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTGT	70	7824	7842	6-7-6	715
599 307	2590	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	66	7825	7843	6-7-6	716
599 308	2591	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCT	68	7826	7844	6-7-6	717
599 309	2592	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCC	52	7827	7845	6-7-6	718
599 310	2593	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCC	39	7828	7846	6-7-6	719
599 311	2594	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	83	7829	7847	6-7-6	720
599 312	2595	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	72	7830	7848	6-7-6	721
599 313	2596	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCACG	86	7831	7849	6-7-6	722
599 314	2597	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCAC	91	7832	7850	6-7-6	723
599 315	2598	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCA	71	7833	7851	6-7-6	724
599 316	2599	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCC	89	7834	7852	6-7-6	725
599 317	2600	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCC	87	7835	7853	6-7-6	726
599 318	2601	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATC	81	7836	7854	6-7-6	727

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SE Q ID NO:
599 319	2602	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTAAATTCAAT	75	7837	7855	6-7-6	728
599 320	2603	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATCAA	84	7838	7856	6-7-6	729
532 917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAATCA	92	7839	7858	5-10-5	317
599 321	2604	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAATCA	90	7839	7857	6-7-6	730
599 322	2605	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAATTC	89	7840	7858	6-7-6	731
599 323	2606	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTAAATT	81	7841	7859	6-7-6	732
599 324	2607	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTAAAT	68	7842	7860	6-7-6	733
599 325	2608	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTAA	71	7843	7861	6-7-6	734
599 326	2609	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTAA	52	7844	7862	6-7-6	735
599 327	2610	2628	Exón 18 / Repeti ción	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	88	np	np	6-7-6	736
599 328	2611	2629	Exón 18 / Repeti ción	TTTGTGTCGCAGCTGTTT	87	np	np	6-7-6	737
599 329	2612	2630	Exón 18 / Repeti ción	TTTTGTGTCGCAGCTGTT	84	np	np	6-7-6	738
599 330	2613	2631	Exón 18 / Repeti ción	TTTTTGTGTCGCAGCTGT	87	np	np	6-7-6	739

**Tabla 137**

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de ini- cio SEQ ID NO: 2	Sitio de para da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599 512	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	74	778 7	780 6	3-10-7	410
599 449	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	43	778 8	780 7	3-10-7	411
599 450	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	51	778 9	780 8	3-10-7	412
599 451	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	35	779 0	780 9	3-10-7	413
599 452	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	34	779 1	781 0	3-10-7	414
599 453	2557	2576	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAAT	44	779 2	781 1	3-10-7	415
599 454	2558	2577	Exón 18	CCCCCTTATAGAAAACCCAAA	54	779 3	781 2	3-10-7	416
599 455	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	53	779 4	781 3	3-10-7	417
599 456	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	69	779 5	781 4	3-10-7	418

N.º ISI S	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de ini- cio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599 457	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	46	779 6	781 5	3-10-7	419
599 458	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	0	779 7	781 6	3-10-7	420
599 459	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	12	779 8	781 7	3-10-7	421
599 460	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	17	779 9	781 8	3-10-7	422
599 461	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	24	780 0	781 9	3-10-7	423
599 462	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	33	780 1	782 0	3-10-7	424
599 463	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	38	780 2	782 1	3-10-7	425
599 464	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	33	780 3	782 2	3-10-7	426
599 465	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	49	780 4	782 3	3-10-7	427
599 466	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	45	780 5	782 4	3-10-7	428
599 467	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	60	780 6	782 5	3-10-7	237
599 468	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	61	780 7	782 6	3-10-7	429
599 469	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	52	780 8	782 7	3-10-7	430
599 470	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCC	45	780 9	782 8	3-10-7	431
599 471	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	67	781 0	782 9	3-10-7	432
599 472	2576	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACC	79	781 1	783 0	3-10-7	433
599 473	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	72	781 2	783 1	3-10-7	238
599 474	2578	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA	87	781 3	783 2	3-10-7	434
599 475	2579	2598	Exón 18	ACGCCCCTGTCCAGCAGGAA	76	781 4	783 3	3-10-7	435
599 476	2580	2599	Exón 18	CACGCCCCTGTCCAGCAGGA	81	781 5	783 4	3-10-7	436
599 477	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCCTGTCCAGCAGG	83	781 6	783 5	3-10-7	437
599 478	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCCTGTCCAGCAG	72	781 7	783 6	3-10-7	438
599 479	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCTGTCCAGCA	81	781 8	783 7	3-10-7	439
599 480	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCTGTCCAGC	77	781 9	783 8	3-10-7	440
599 481	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCTGTCCAG	83	782 0	783 9	3-10-7	441
599 482	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCTGTCCA	87	782 1	784 0	3-10-7	442
599 483	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCTGTCC	90	782 2	784 1	3-10-7	443
599 484	2588	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCTGTCT	72	782 3	784 2	3-10-7	444
599 485	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCCTGT	82	782 4	784 3	3-10-7	445
599 486	2590	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCCTG	84	782 5	784 4	3-10-7	446
599 487	2591	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCCT	84	782 6	784 5	3-10-7	447
599 488	2592	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCC	87	782 7	784 6	3-10-7	448

N.º ISI S	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de ini- cio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599 489	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	87	782 8	784 7	3-10-7	449
599 490	2594	2613	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	86	782 9	784 8	3-10-7	450
599 491	2595	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCCACGC	87	783 0	784 9	3-10-7	451
599 492	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCACG	88	783 1	785 0	3-10-7	452
599 493	2597	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCAC	75	783 2	785 1	3-10-7	453
599 433	2597	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCAC	89	783 2	785 1	6-8-6	453
599 494	2598	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCCA	90	783 3	785 2	3-10-7	454
599 434	2598	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCCA	89	783 3	785 2	6-8-6	454
599 495	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	88	783 4	785 3	3-10-7	239
599 435	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	91	783 4	785 3	6-8-6	239
599 496	2600	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATCC	89	783 5	785 4	3-10-7	455
599 436	2600	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATCC	89	783 5	785 4	6-8-6	455
599 497	2601	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAATC	89	783 6	785 5	3-10-7	456
599 437	2601	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAATC	91	783 6	785 5	6-8-6	456
599 498	2602	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAAT	88	783 7	785 6	3-10-7	457
599 438	2602	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAAT	90	783 7	785 6	6-8-6	457
599 499	2603	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCAA	81	783 8	785 7	3-10-7	458
599 439	2603	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCAA	88	783 8	785 7	6-8-6	458
532 917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	90	783 9	785 8	5-10-5	317
599 500	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	88	783 9	785 8	3-10-7	317
599 440	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	88	783 9	785 8	6-8-6	317
599 501	2605	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATTC	78	784 0	785 9	3-10-7	459
599 441	2605	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATTC	90	784 0	785 9	6-8-6	459
599 502	2606	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAATT	87	784 1	786 0	3-10-7	460
599 442	2606	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAATT	76	784 1	786 0	6-8-6	460
599 503	2607	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTTAAT	83	784 2	786 1	3-10-7	461
599 443	2607	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTTAAT	77	784 2	786 1	6-8-6	461
599 504	2608	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTTAA	89	784 3	786 2	3-10-7	395
599 444	2608	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTTAA	69	784 3	786 2	6-8-6	395
599 505	2609	2628	Exón 19 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTTTTA	83	np	np	3-10-7	462

N.º ISI S	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de ini- cio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599 445	2609	2628	Exón 19 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTTAA	85	np	np	6-8-6	462
599 506	2610	2629	Exón 19 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTTTT	89	np	np	3-10-7	463
599 446	2610	2629	Exón 19 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTTTT	85	np	np	6-8-6	463
599 507	2611	2630	Exón 19 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCTGTTT	82	np	np	3-10-7	464
599 447	2611	2630	Exón 19 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCTGTTT	83	np	np	6-8-6	464
599 508	2612	2631	Exón 19 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCTGTT	90	np	np	3-10-7	465
599 448	2612	2631	Exón 19 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCTGTT	87	np	np	6-8-6	465

**Ejemplo 119: inhibición antisentido del factor B del complemento humano (CFB) en células HepG2 por gápmeros MOE**

5 Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del factor B del complemento humano (CFB) y se sometieron a prueba para determinar sus efectos sobre el ARNm de CFB *in vitro*. Los oligonucleótidos antisentido se sometieron a prueba en una serie de experimentos que tuvieron condiciones de cultivo similares. Los resultados de cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación.

10 Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 2.000 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se

15 presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos recientemente diseñados en las tablas a continuación se diseñaron como gápmeros 4-8-5 MOE, 5-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 6-7-6- MOE, 3-10-5 MOE, o 6-8-6 MOE.

20 Los gápmeros 4-8-5 MOE tienen una longitud de 17 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cuatro y cinco nucleósidos respectivamente. Los gápmeros 5-8-5 MOE tienen una longitud de 18 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmeros 5-9-5 MOE tienen una longitud de 19 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende nueve 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmeros 5-10-5 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmeros 3-10-5 MOE tienen una longitud de 18 nucleósidos, en los que el segmento central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden tres y cinco nucleósidos respectivamente. Los gápmeros 6-7-6 MOE tienen una longitud de 19 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende siete 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden seis nucleósidos cada uno. Los gápmeros 6-8-6 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento

de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden seis nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento de ala 5' y cada nucleósido en el segmento de ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gápmo son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gápmo son 5-metilcitosinas.

"Sitio de inicio" indica el nucleósido más hacia 5' al que se dirige el gápmo en la secuencia génica humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más hacia 3' al que se dirige el gápmo en la secuencia génica humana. Cada gápmo enumerado en las tablas a continuación se dirige al ARNm de CFB humano, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 1 (n.º de acceso GENBANK NM\_001710.5) o bien a la secuencia genómica de CFB humano, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 2 (n.º de acceso GENBANK NT\_007592.15 truncada de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o a ambos, 'np' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100 % de complementariedad.

### Tabla 138

Inhibición de ARNm de CFB por gápmos MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599160	2560	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCA	26	7795	7812	5-8-5	740
599161	2561	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCC	20	7796	7813	5-8-5	741
599162	2562	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACC	12	7797	7814	5-8-5	742
599163	2563	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAAC	11	7798	7815	5-8-5	743
599164	2564	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAA	11	7799	7816	5-8-5	744
599165	2566	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7818	5-8-5	745
599166	2567	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGA	12	7802	7819	5-8-5	746
599167	2568	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAG	14	7803	7820	5-8-5	747
599168	2569	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATA	16	7804	7821	5-8-5	748
599169	2570	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTAT	24	7805	7822	5-8-5	749
599170	2571	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTA	37	7806	7823	5-8-5	750
599171	2572	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTT	30	7807	7824	5-8-5	751
599172	2573	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCT	43	7808	7825	5-8-5	752
599173	2574	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCC	47	7809	7826	5-8-5	753
599174	2575	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCC	27	7810	7827	5-8-5	754

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599175	2576	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACC	30	7811	7828	5-8-5	755
599176	2577	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAAC	34	7812	7829	5-8-5	756
599177	2578	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAA	41	7813	7830	5-8-5	757
599178	2580	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGA	67	7815	7832	5-8-5	758
599179	2581	2598	Exón 18	ACGCCCCTGTCCAGCAGG	61	7816	7833	5-8-5	759
599180	2582	2599	Exón 18	CACGCCCCTGTCCAGCAG	62	7817	7834	5-8-5	760
599181	2583	2600	Exón 18	CCACGCCCCTGTCCAGCA	63	7818	7835	5-8-5	761
599128	2584	2600	Exón 18	CCACGCCCCTGTCCAGC	55	7819	7835	4-8-5	649
599182	2584	2601	Exón 18	CCCACGCCCCTGTCCAGC	58	7819	7836	5-8-5	762
599129	2585	2601	Exón 18	CCCACGCCCCTGTCCAG	41	7820	7836	4-8-5	650
599183	2585	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCTGTCCAG	43	7820	7837	5-8-5	763
599130	2586	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCTGTCCA	46	7821	7837	4-8-5	651
599184	2586	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCTGTCCA	32	7821	7838	5-8-5	764
599131	2587	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCTGTCC	30	7822	7838	4-8-5	652
599185	2587	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCTGTCC	35	7822	7839	5-8-5	765
599132	2588	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCTGTC	52	7823	7839	4-8-5	653
599186	2588	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCTGTC	55	7823	7840	5-8-5	766
599133	2589	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCTGT	66	7824	7840	4-8-5	654
599187	2589	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCTGT	72	7824	7841	5-8-5	767
599134	2590	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCTG	80	7825	7841	4-8-5	655
599188	2590	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCTG	92	7825	7842	5-8-5	768
599135	2591	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCT	61	7826	7842	4-8-5	656

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599189	2591	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCCCT	52	7826	7843	5-8-5	769
599136	2592	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCC	68	7827	7843	4-8-5	657
599190	2592	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCC	62	7827	7844	5-8-5	770
599137	2593	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCC	51	7828	7844	4-8-5	658
599191	2593	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCC	54	7828	7845	5-8-5	771
599138	2594	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCC	71	7829	7845	4-8-5	659
599192	2594	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCC	66	7829	7846	5-8-5	772
599139	2595	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGC	80	7830	7846	4-8-5	660
599193	2595	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGC	74	7830	7847	5-8-5	773
599140	2596	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACG	66	7831	7847	4-8-5	786
599194	2596	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACG	66	7831	7848	5-8-5	774
599141	2597	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCAC	63	7832	7848	4-8-5	662
599195	2597	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCAC	86	7832	7849	5-8-5	775
599142	2598	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCA	69	7833	7849	4-8-5	663
599196	2598	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCA	82	7833	7850	5-8-5	776
599143	2599	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCC	59	7834	7850	4-8-5	664
599197	2599	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCC	79	7834	7851	5-8-5	777
599144	2600	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCC	52	7835	7851	4-8-5	665
599198	2600	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCC	86	7835	7852	5-8-5	778
599145	2601	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATC	53	7836	7852	4-8-5	666
599199	2601	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATC	72	7836	7853	5-8-5	779
599146	2602	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAAT	42	7837	7853	4-8-5	667



ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599200	2602	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAAT	76	7837	7854	5-8-5	780
599147	2603	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAA	55	7838	7854	4-8-5	668
599201	2603	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAA	87	7838	7855	5-8-5	781
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC A	93	7839	7858	5-10-5	317
599148	2604	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCA	84	7839	7855	4-8-5	669
599202	2604	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCA	89	7839	7856	5-8-5	782
599149	2605	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTC	92	7840	7856	4-8-5	670
599203	2605	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTC	90	7840	7857	5-8-5	783
599150	2606	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATT	75	7841	7857	4-8-5	671
599151	2607	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT	80	7842	7858	4-8-5	672
599152	2608	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAA	76	7843	7859	4-8-5	673
599153	2609	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTA	56	7844	7860	4-8-5	674
599154	2610	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTT	85	7845	7861	4-8-5	675
599155	2611	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTT	89	7846	7862	4-8-5	676
599156	2612	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTT	83	np	np	4-8-5	813
599157	2613	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTCGCAGCTGT	78	np	np	4-8-5	678
599158	2614	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTTCGCAGCTG	83	np	np	4-8-5	679
599159	2615	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTCGCAGCT	65	np	np	4-8-5	680
599204	2606	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT	83	7841	7858	5-8-5	784

Tabla 139

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599509	2552	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTC A	45	7787	7805	6-7-6	681
599213	2553	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTC	89	7788	7805	3-10-5	785
599273	2553	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCT C	85	7788	7806	6-7-6	682
599214	2554	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCT	79	7789	7806	3-10-5	786
599274	2554	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCC T	75	7789	7807	6-7-6	683
599215	2555	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCC	81	7790	7807	3-10-5	787
599216	2556	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATC	87	7791	7808	3-10-5	788
599275	2556	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAAT C	84	7791	7809	6-7-6	684
599217	2557	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAAT	84	7792	7809	3-10-5	789
599276	2557	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAA T	68	7792	7810	6-7-6	685
599218	2558	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAA	82	7793	7810	3-10-5	790
599277	2558	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAA A	82	7793	7811	6-7-6	686
599219	2559	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAA	81	7794	7811	3-10-5	791
599278	2559	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCA A	84	7794	7812	6-7-6	687
599220	2560	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCA	92	7795	7812	3-10-5	740
599279	2560	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCC A	92	7795	7813	6-7-6	688
599221	2561	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCC	93	7796	7813	3-10-5	741
599280	2561	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACC C	90	7796	7814	6-7-6	689
599222	2562	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACC	95	7797	7814	3-10-5	742
599223	2563	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAAC	93	7798	7815	3-10-5	743
599224	2564	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAA	90	7799	7816	3-10-5	744
599225	2566	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAA	93	7801	7818	3-10-5	745
599226	2567	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGA	95	7802	7819	3-10-5	746
599227	2568	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAG	94	7803	7820	3-10-5	747
599228	2569	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATA	96	7804	7821	3-10-5	748
599229	2570	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTAT	92	7805	7822	3-10-5	749
599230	2571	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTA	88	7806	7823	3-10-5	750
599231	2572	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTT	83	7807	7824	3-10-5	751
599232	2573	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCT	89	7808	7825	3-10-5	752
599233	2574	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCC	83	7809	7826	3-10-5	753
599234	2575	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCC	88	7810	7827	3-10-5	754
599235	2576	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACC	91	7811	7828	3-10-5	755

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599236	2577	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAAC	90	7812	7829	3-10-5	756
599237	2578	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAA	34	7813	7830	3-10-5	757
599238	2580	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGA	14	7815	7832	3-10-5	758
599239	2581	2598	Exón 18	ACGCCCCTGTCCAGCAGG	10	7816	7833	3-10-5	759
599240	2582	2599	Exón 18	CACGCCCCTGTCCAGCAG	26	7817	7834	3-10-5	760
599241	2583	2600	Exón 18	CCACGCCCCTGTCCAGCA	11	7818	7835	3-10-5	761
599242	2584	2601	Exón 18	CCCACGCCCCTGTCCAGC	24	7819	7836	3-10-5	762
599243	2585	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCTGTCCAG	23	7820	7837	3-10-5	763
599244	2586	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCTGTCCA	29	7821	7838	3-10-5	764
599245	2587	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCTGTCC	11	7822	7839	3-10-5	765
599246	2588	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCTGTC	0	7823	7840	3-10-5	766
599247	2589	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCTGT	21	7824	7841	3-10-5	767
599248	2590	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCTG	0	7825	7842	3-10-5	768
599249	2591	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCCT	9	7826	7843	3-10-5	769
599250	2592	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCC	4	7827	7844	3-10-5	770
599251	2593	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCC	12	7828	7845	3-10-5	771
599252	2594	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCC	2	7829	7846	3-10-5	772
599253	2595	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGC	28	7830	7847	3-10-5	773
599254	2596	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACG	27	7831	7848	3-10-5	774
599255	2597	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCCAC	38	7832	7849	3-10-5	775
599256	2598	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCA	36	7833	7850	3-10-5	776
599257	2599	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCC	48	7834	7851	3-10-5	777
599258	2600	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCC	19	7835	7852	3-10-5	778
599259	2601	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATC	36	7836	7853	3-10-5	779
599260	2602	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAAT	58	7837	7854	3-10-5	780
599261	2603	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAA	35	7838	7855	3-10-5	781
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT CA	96	7839	7858	5-10-5	317
599262	2604	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCA	52	7839	7856	3-10-5	782
599263	2605	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTC	66	7840	7857	3-10-5	783
599264	2606	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT	48	7841	7858	3-10-5	784
599265	2607	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAAT	46	7842	7859	3-10-5	792
599205	2607	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAAT	83	7842	7859	5-8-5	792
599266	2608	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAA	76	7843	7860	3-10-5	793
599206	2608	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAA	90	7843	7860	5-8-5	793
599267	2609	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTA	53	7844	7861	3-10-5	794
599207	2609	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTA	82	7844	7861	5-8-5	794
599268	2610	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTT	58	7845	7862	3-10-5	795

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599208	2610	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTT	70	7845	7862	5-8-5	795
599269	2611	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	38	np	np	3-10-5	796
599209	2611	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	50	np	np	5-8-5	796
599270	2612	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTT	46	np	np	3-10-5	797
599210	2612	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTT	76	np	np	5-8-5	797
599271	2613	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	64	np	np	3-10-5	798
599211	2613	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	78	np	np	5-8-5	798
599272	2614	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTG	89	np	np	3-10-5	799
599212	2614	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCTG	84	np	np	5-8-5	799

**Tabla 140**

Inhibición de ARNm de CFB por gámperos MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599511	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTC A	38	7787	7806	6-8-6	410
599389	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	80	7788	7807	6-8-6	411
599390	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	92	7789	7808	6-8-6	412
599391	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	90	7790	7809	6-8-6	413
599392	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	87	7791	7810	6-8-6	414
599393	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	87	7792	7811	6-8-6	415
599394	2558	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA A	74	7793	7812	6-8-6	416
599395	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCA A	78	7794	7813	6-8-6	417
599396	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCC A	77	7795	7814	6-8-6	418
599397	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACC C	89	7796	7815	6-8-6	419

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599398	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAAC C	90	7797	7816	6-8-6	420
599399	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAA C	91	7798	7817	6-8-6	421
599400	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA A	88	7799	7818	6-8-6	422
599401	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAA A	85	7800	7819	6-8-6	423
599402	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGA A	77	7801	7820	6-8-6	424
599403	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAG A	85	7802	7821	6-8-6	425
599404	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATA G	90	7803	7822	6-8-6	426
599405	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTAT A	89	7804	7823	6-8-6	427
599406	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT GTCCAGCAGGAAACCCCTT A	72	7805	7824	6-8-6	428
599407	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTT A	87	7806	7825	6-8-6	237
599408	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	87	7807	7826	6-8-6	429
599409	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	83	7808	7827	6-8-6	430
599410	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC C	88	7809	7828	6-8-6	431
599411	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACC C	45	7810	7829	6-8-6	432
599412	2576	2595	Exón 18	CCCCGTGTCCAGCAGGAAAC C	66	7811	7830	6-8-6	433
599413	2577	2596	Exón 18	GCCCCGTGTCCAGCAGGAAA C	92	7812	7831	6-8-6	238
599414	2578	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAA A	92	7813	7832	6-8-6	434
599415	2579	2598	Exón 18	ACGCCCCTGTCCAGCAGGA A	87	7814	7833	6-8-6	435
599416	2580	2599	Exón 18	CACGCCCCTGTCCAGCAGG A	91	7815	7834	6-8-6	436
599417	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCCTGTCCAGCAGG	84	7816	7835	6-8-6	437
599357	2582	2600	Exón 18	CCACGCCCCTGTCCAGCAG	88	7817	7835	5-9-5	708
599418	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCCTGTCCAGCAG	85	7817	7836	6-8-6	438
599358	2583	2601	Exón 18	CCCACGCCCCTGTCCAGCA	86	7818	7836	5-9-5	709
599419	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCTGTCCAGCA	91	7818	7837	6-8-6	833
599359	2584	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCTGTCCAGC	85	7819	7837	5-9-5	834
599420	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCTGTCCAGC	91	7819	7838	6-8-6	440
599360	2585	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCTGTCCAG	89	7820	7838	5-9-5	711

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599421	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCTGTCCAG	87	7820	7839	6-8-6	441
599361	2586	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCTGTCCA	89	7821	7839	5-9-5	712
599422	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCTGTCCA	90	7821	7840	6-8-6	442
599362	2587	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCTGTCC	94	7822	7840	5-9-5	713
599423	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCTGTCC	85	7822	7841	6-8-6	841
599363	2588	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCTGTC	88	7823	7841	5-9-5	714
599424	2588	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCTGTC	88	7823	7842	6-8-6	444
599364	2589	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCTGT	88	7824	7842	5-9-5	715
599425	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCCTGT	68	7824	7843	6-8-6	445
599365	2590	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCCTG	48	7825	7843	5-9-5	716
599426	2590	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCCTG	55	7825	7844	6-8-6	446
599366	2591	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCCT	28	7826	7844	5-9-5	717
599427	2591	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCCT	13	7826	7845	6-8-6	849
599367	2592	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCC	21	7827	7845	5-9-5	718
599428	2592	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCC	39	7827	7846	6-8-6	448
599368	2593	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCC	20	7828	7846	5-9-5	719
599429	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCCC	18	7828	7847	6-8-6	449
599369	2594	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	78	7829	7847	5-9-5	720
599430	2594	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	24	7829	7848	6-8-6	450
599370	2595	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	25	7830	7848	5-9-5	721
599431	2595	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCCACGC	30	7830	7849	6-8-6	451
599371	2596	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCCACG	84	7831	7849	5-9-5	722
599432	2596	2615	Exón 18	TGTTTAAATTCAATCCCACG	29	7831	7850	6-8-6	452
599372	2597	2615	Exón 18	TGTTTAAATTCAATCCCAC	83	7832	7850	5-9-5	723
599373	2598	2616	Exón 18	CTGTTTAAATTCAATCCCA	81	7833	7851	5-9-5	724
599374	2599	2617	Exón 18	GCTGTTTAAATTCAATCCC	26	7834	7852	5-9-5	725
599375	2600	2618	Exón 18	AGCTGTTTAAATTCAATCC	26	7835	7853	5-9-5	726
599376	2601	2619	Exón 18	CAGCTGTTTAAATTCAATC	62	7836	7854	5-9-5	727
599377	2602	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTAAATTCAAT	21	7837	7855	5-9-5	728
599378	2603	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATTCAA	90	7838	7856	5-9-5	729
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAATTCA	95	7839	7858	5-10-5	867
599379	2604	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAATTCA	88	7839	7857	5-9-5	730
599380	2605	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAATTC	37	7840	7858	5-9-5	869
599381	2606	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTAAATT	33	7841	7859	5-9-5	732
599382	2607	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTAAAT	81	7842	7860	5-9-5	733
599383	2608	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTAA	54	7843	7861	5-9-5	734
599384	2609	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTAA	85	7844	7862	5-9-5	873

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599385	2610	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTTT	59	np	np	5-9-5	736
599386	2611	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTTT	81	np	np	5-9-5	737
599387	2612	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCTGTT	80	np	np	5-9-5	738
599388	2613	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTGT	84	np	np	5-9-5	739

**Ejemplo 120: inhibición antisentido del factor B del complemento humano (CFB) en células HepG2 por gápmers MOE**

- 5 Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del factor B del complemento humano (CFB) y se sometieron a prueba para determinar sus efectos sobre el ARNm de CFB *in vitro*. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 1.000 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

15 Los oligonucleótidos antisentido quiméricos recientemente diseñados en las tablas a continuación se diseñaron como oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt. Los oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt tienen una longitud de 16 nucleósidos en los que el nucleósido tiene una modificación glucídica MOE, una modificación glucídica (S)-cEt o bien una modificación desoxi. La columna 'Química' describe las modificaciones glucídicas de cada oligonucleótido, 'k' indica una modificación glucídica (S)-cEt; 'd' indica desoxirribosa; y 'e' indica una modificación MOE.

20 "Sitio de inicio" indica el nucleósido más hacia 5' al que se dirige el gápmero en la secuencia génica humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más hacia 3' al que se dirige el gápmero en la secuencia génica humana. Cada gápmero enumerado en las tablas a continuación se dirige al ARNm de CFB humano, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 1 (n.º de acceso GENBANK NM\_001710.5) o bien a la secuencia genómica de CFB humano, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 2 (n.º de acceso GENBANK NT\_007592.15 truncada de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o a ambos, 'np' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100 % de complementariedad.

**Tabla 141**

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599513	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT	11	7786	7801	ekkeekkkddddddkk	557
599514	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTC	13	7788	7803	ekkeekkkddddddkk	801
599515	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCC	54	7790	7805	ekkeekkkddddddkk	559

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
5995 16	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	16	7794	7809	ekkeekkddddddkk	561
5995 17	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCA	29	7795	7810	ekkeekkddddddkk	562
5995 18	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCC	55	7796	7811	ekkeekkddddddkk	563
5995 19	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACC	31	7797	7812	ekkeekkddddddkk	564
5995 20	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAAC	14	7798	7813	ekkeekkddddddkk	565
5995 21	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAA	9	7799	7814	ekkeekkddddddkk	566
5995 22	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	8	7800	7815	ekkeekkddddddkk	567
5995 23	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAA	6	7801	7816	ekkeekkddddddkk	568
5995 24	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGA	14	7802	7817	ekkeekkddddddkk	569
5995 25	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAG	6	7803	7818	ekkeekkddddddkk	570
5995 26	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATA	16	7804	7819	ekkeekkddddddkk	571
5995 27	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTAT	0	7805	7820	ekkeekkddddddkk	572
5995 28	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTA	6	7806	7821	ekkeekkddddddkk	573
5995 29	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTT	6	7807	7822	ekkeekkddddddkk	574
5995 30	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCC	29	7809	7824	ekkeekkddddddkk	576
5995 31	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC	64	7810	7825	ekkeekkddddddkk	577
5995 32	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACC	43	7811	7826	ekkeekkddddddkk	578
5995 33	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	25	7812	7827	ekkeekkddddddkk	820
5995 34	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	12	7813	7828	ekkeekkddddddkk	580
5995 35	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	16	7815	7830	ekkeekkddddddkk	582
5995 36	2582	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	27	7817	7832	ekkeekkddddddkk	584
5995 37	2583	2598	Exón 18	ACGCCCCTGTCCAGCA	35	7818	7833	ekkeekkddddddkk	585
5995 38	2584	2599	Exón 18	CACGCCCCTGTCCAGC	26	7819	7834	ekkeekkddddddkk	586
5995 39	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCCTGTCCAG	33	7820	7835	ekkeekkddddddkk	587
5995 40	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCCTGTCCA	27	7821	7836	ekkeekkddddddkk	588
5995 41	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCTGTCC	52	7822	7837	ekkeekkddddddkk	589
5995 42	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCTGTC	16	7823	7838	ekkeekkddddddkk	590
5995 43	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCTGT	19	7824	7839	ekkeekkddddddkk	591



N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
5995 44	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCTG	33	7825	7840	ekkeekkddddddkk	831
5995 45	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCCT	24	7826	7841	ekkeekkddddddkk	593
5995 46	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	54	7827	7842	ekkeekkddddddkk	594
5995 47	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCC	87	7828	7843	ekkeekkddddddkk	595
5995 48	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	79	7829	7844	ekkeekkddddddkk	596
5995 49	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	62	7830	7845	ekkeekkddddddkk	597
5995 50	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	52	7831	7846	ekkeekkddddddkk	598
5995 51	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	27	7832	7847	ekkeekkddddddkk	599
5995 77	2597	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCAC	90	7832	7848	eeekkddddddkkee	662
5995 52	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	92	7833	7848	ekkeekkddddddkk	600
5995 78	2598	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCCA	88	7833	7849	eeekkddddddkkee	663
5995 53	2599	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCC	91	7834	7849	ekkeekkddddddkk	601
5995 79	2599	2615	Exón 18	TGTTTAAATTCAATCCC	79	7834	7850	eeekkddddddkkee	664
5995 54	2600	2615	Exón 18	TGTTTAAATTCAATCC	90	7835	7850	ekkeekkddddddkk	602
5995 80	2600	2616	Exón 18	CTGTTTAAATTCAATCC	79	7835	7851	eeekkddddddkkee	665
5995 55	2601	2616	Exón 18	CTGTTTAAATTCAATC	79	7836	7851	ekkeekkddddddkk	846
5995 81	2601	2617	Exón 18	GCTGTTTAAATTCAATC	90	7836	7852	eeekkddddddkkee	666
5995 56	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTAAATTCAAT	47	7837	7852	ekkeekkddddddkk	604
5995 82	2602	2618	Exón 18	AGCTGTTTAAATTCAAT	89	7837	7853	eeekkddddddkkee	849
5995 57	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTAAATTCAA	67	7838	7853	ekkeekkddddddkk	850
5995 83	2603	2619	Exón 18	CAGCTGTTTAAATTCAA	49	7838	7854	eeekkddddddkkee	668
5329 17	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAATTCA	78	7839	7858	ccccdddddddece ee	317
5995 58	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTAAATTCA	80	7839	7854	ekkeekkddddddkk	606
5995 84	2604	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTAAATTCA	66	7839	7855	eeekkddddddkkee	669
5995 59	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTAAATTC	38	7840	7855	ekkeekkddddddkk	607
5995 85	2605	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATTC	80	7840	7856	eeekkddddddkkee	670
5995 60	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATT	16	7841	7856	ekkeekkddddddkk	608
5995 86	2606	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAATT	78	7841	7857	eeekkddddddkkee	671

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
5995 61	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAAT	58	7842	7857	ckkeekkddddddkk	609
5995 87	2607	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAAT	81	7842	7858	eeekkdddddddkkeee	672
5888 60	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAA	92	7843	7858	eeekdddddddkke	610
5995 62	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAA	78	7843	7858	ekkeekkddddddkk	610
5995 88	2608	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	81	7843	7859	eeekkdddddddkkeee	673
5995 63	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	86	7844	7859	ekkeekkddddddkk	611
5995 89	2609	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTAA	75	7844	7860	eeekkdddddddkkeee	674
5995 64	2610	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTT	75	7845	7860	ekkeekkddddddkk	612
5995 90	2610	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTTT	88	7845	7861	eeekkdddddddkkeee	675
5995 65	2611	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	65	7846	7861	ekkeekkddddddkk	613
5995 91	2611	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTTT	94	7846	7862	eeekkdddddddkkeee	676
5995 66	2612	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	72	7847	7862	ekkeekkddddddkk	614
5995 92	2612	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTT	90	np	np	eeekkdddddddkkeee	677
5995 67	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGT	82	np	np	ekkeekkddddddkk	615
5995 93	2613	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGT	95	np	np	eeekkdddddddkkeee	678
5995 68	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTG	92	np	np	ekkeekkddddddkk	616
5995 94	2614	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCTG	86	np	np	eeekkdddddddkkeee	679
5995 69	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCT	89	np	np	ekkeekkddddddkk	617
5995 95	2615	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCT	76	np	np	eeekkdddddddkkeee	680
5995 70	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGC	95	np	np	ekkeekkddddddkk	618

**Ejemplo 121: inhibición antisentido del factor B del complemento humano (CFB) en células HepG2 por gámperos MOE**

- 5 Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos al ácido nucleico del factor B del complemento humano (CFB) y se sometieron a prueba para determinar sus efectos sobre el ARNm de CFB *in vitro*. Los oligonucleótidos antisentido se sometieron a prueba en una serie de experimentos que tuvieron condiciones de cultivo similares. Los resultados de cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se transfectaron células HepG2 cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación

con oligonucleótido antisentido 500 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos recientemente diseñados en las tablas a continuación se diseñaron como oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt, o como gápmers 5-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 6-7-6- MOE, 3-10-5 MOE o 6-8-6 MOE.

Los oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt tienen una longitud de 16 nucleósidos en los que el nucleósido tiene una modificación glucídica MOE, una modificación glucídica (S)-cEt o bien una modificación desoxi. La columna 'Química' describe las modificaciones glucídicas de cada oligonucleótido, 'k' indica una modificación glucídica (S)-cEt; 'd' indica desoxirribosa; y 'e' indica una modificación MOE.

Los gápmers 5-8-5 MOE tienen una longitud de 18 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmers 5-9-5 MOE tienen una longitud de 19 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende nueve 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmers 5-10-5 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada uno. Los gápmers 3-10-5 MOE tienen una longitud de 18 nucleósidos, en los que el segmento central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden tres y cinco nucleósidos respectivamente. Los gápmers 6-7-6 MOE tienen una longitud de 19 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende siete 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden seis nucleósidos cada uno. Los gápmers 6-8-6 MOE tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central comprende ocho 2'-desoxinucleósidos y se flanquea por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden seis nucleósidos cada uno. Cada nucleósido en el segmento de ala 5' y cada nucleósido en el segmento de ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gápmers son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gápmers son 5-metilcitosinas.

"Sitio de inicio" indica el nucleósido más hacia 5' al que se dirige el gápmers en la secuencia génica humana. "Sitio de parada" indica el nucleósido más hacia 3' al que se dirige el gápmers en la secuencia génica humana. Cada gápmers enumerado en las tablas a continuación se dirige al ARNm de CFB humano, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 1 (n.º de acceso GENBANK NM\_001710.5) o bien a la secuencia genómica de CFB humano, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 2 (n.º de acceso GENBANK NT\_007592.15 truncada de los nucleótidos 31852000 a 31861000), o a ambos, 'np' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100 % de complementariedad.

**Tabla 142**

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6011 52	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT	22	7786	7801	eekkdddddddkkee	557
6012 18	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT	21	7786	7801	eekkdddddddkkee	557
6011 53	2552	2567	Exón 18	AAAACCCAAATCCTCA	27	7787	7802	eekkdddddddkkee	800
6012 19	2552	2567	Exón 18	AAAACCCAAATCCTCA	19	7787	7802	eekkdddddddkkee	800
6011 54	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTC	23	7788	7803	eekkdddddddkkee	558
6012 20	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTC	24	7788	7803	eekkdddddddkkee	558

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6011 55	2554	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCT	20	7789	7804	eekkdddddddkkee	801
6012 21	2554	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCT	0	7789	7804	eekkdddddddkkee	801
6011 56	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCC	11	7790	7805	eekkdddddddkkee	559
6012 22	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCC	23	7790	7805	eekkdddddddkkee	559
6011 57	2556	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATC	9	7791	7806	eekkdddddddkkee	560
6012 23	2556	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATC	0	7791	7806	eekkdddddddkkee	560
6011 58	2557	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAAT	0	7792	7807	eekkdddddddkkee	802
6012 24	2557	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAAT	0	7792	7807	eekkdddddddkkee	802
6011 59	2558	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAA	2	7793	7808	eekkdddddddkkee	803
6012 25	2558	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7808	eekkdddddddkkee	803
6011 60	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	0	7794	7809	eekkdddddddkkee	561
6012 26	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	0	7794	7809	eekkdddddddkkee	561
6011 61	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCA	1	7795	7810	eekkdddddddkkee	562
6012 27	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCA	14	7795	7810	eekkdddddddkkee	562
6011 62	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCC	9	7796	7811	eekkdddddddkkee	563
6012 28	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCC	9	7796	7811	eekkdddddddkkee	563
6011 63	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACC	0	7797	7812	eekkdddddddkkee	564
6011 64	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAAC	3	7798	7813	eekkdddddddkkee	565
6011 65	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAA	0	7799	7814	eekkdddddddkkee	566
6011 66	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	0	7800	7815	eekkdddddddkkee	567
6011 67	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	eekkdddddddkkee	568
6011 68	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7817	eekkdddddddkkee	569
6011 69	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAG	0	7803	7818	eekkdddddddkkee	570
6011 70	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATA	10	7804	7819	eekkdddddddkkee	571
6011 71	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTAT	9	7805	7820	eekkdddddddkkee	572
6011 72	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTA	15	7806	7821	eekkdddddddkkee	573
6011 73	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTT	29	7807	7822	eekkdddddddkkee	574
6011 74	2573	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCT	25	7808	7823	eekkdddddddkkee	575

ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6011 75	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCC	15	7809	7824	eekkdddddddkkee	576
6011 76	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC	18	7810	7825	eekkdddddddkkee	577
6011 77	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACC	10	7811	7826	eekkdddddddkkee	578
6011 78	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	11	7812	7827	eekkdddddddkkee	579
6011 79	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	19	7813	7828	eekkdddddddkkee	580
6011 80	2579	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAA	7	7814	7829	eekkdddddddkkee	581
6011 81	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	3	7815	7830	eekkdddddddkkee	582
6011 82	2581	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGG	0	7816	7831	eekkdddddddkkee	583
6011 83	2582	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	4	7817	7832	eekkdddddddkkee	584
6011 84	2583	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCA	14	7818	7833	eekkdddddddkkee	585
6011 85	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC	26	7819	7834	eekkdddddddkkee	586
6011 86	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAG	8	7820	7835	eekkdddddddkkee	587
6011 87	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA	18	7821	7836	eekkdddddddkkee	588
6011 88	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC	20	7822	7837	eekkdddddddkkee	589
6011 89	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTC	12	7823	7838	eekkdddddddkkee	590
6011 90	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT	33	7824	7839	eekkdddddddkkee	591
6011 91	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTG	52	7825	7840	eekkdddddddkkee	592
6011 92	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCT	46	7826	7841	eekkdddddddkkee	593
6011 93	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	30	7827	7842	eekkdddddddkkee	594
6011 94	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCC	41	7828	7843	eekkdddddddkkee	595
6011 95	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	40	7829	7844	eekkdddddddkkee	596
6011 96	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	71	7830	7845	eekkdddddddkkee	597
6011 97	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	42	7831	7846	eekkdddddddkkee	598
6011 98	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	63	7832	7847	eekkdddddddkkee	599
6011 99	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	51	7833	7848	eekkdddddddkkee	600
6012 00	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	65	7834	7849	eekkdddddddkkee	601
6012 01	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	49	7835	7850	eekkdddddddkkee	602
6012 02	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	33	7836	7851	eekkdddddddkkee	603

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6012 03	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	63	7837	7852	eekkkkkkkkkkkkee	604
6012 04	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAA	69	7838	7853	eekkkkkkkkkkkkee	605
5329 17	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT CA	73	7839	7858	eeeeedkkkkkkkkkk e	317
6012 05	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCA	51	7839	7854	eekkkkkkkkkkkkee	606
6012 06	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTC	43	7840	7855	eekkkkkkkkkkkkee	607
6012 07	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATT	52	7841	7856	eekkkkkkkkkkkkee	608
6012 08	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAAT	61	7842	7857	eekkkkkkkkkkkkee	609
5888 60	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	75	7843	7858	eekkkkkkkkkkkkee	610
6012 09	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	73	7843	7858	eekkkkkkkkkkkkee	610
6012 10	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTA	80	7844	7859	eekkkkkkkkkkkkee	611
6012 11	2610	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTT	64	7845	7860	eekkkkkkkkkkkkee	612
6012 12	2611	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	86	7846	7861	eekkkkkkkkkkkkee	613
6012 13	2612	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	87	7847	7862	eekkkkkkkkkkkkee	614
6012 14	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGT	84	np	np	eekkkkkkkkkkkkee	615
6012 15	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTG	78	np	np	eekkkkkkkkkkkkee	616
6012 16	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCT	73	np	np	eekkkkkkkkkkkkee	617
6012 17	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGC	66	np	np	eekkkkkkkkkkkkee	618

**Tabla 143**

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6012 84	2551	2566	Exón 18	AAACCCAAATCCTCAT <sup>†</sup>	8	7786	7801	ekkkkkkkkkkkkkccc	557

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6012 85	2552	2567	Exón 18	AAAACCCAAATCCTCA	15	7787	7802	ekkkkkkkkkkkkkkk	800
6012 86	2553	2568	Exón 18	GAAAACCCAAATCCTC	21	7788	7803	ekkkkkkkkkkkkkkk	558
6012 87	2554	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCT	9	7789	7804	ekkkkkkkkkkkkkkk	801
6012 88	2555	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCC	0	7790	7805	ekkkkkkkkkkkkkkk	559
6012 89	2556	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATC	40	7791	7806	ekkkkkkkkkkkkkkk	560
6012 90	2557	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAAT	16	7792	7807	ekkkkkkkkkkkkkkk	802
6012 91	2558	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAA	15	7793	7808	ekkkkkkkkkkkkkkk	803
6012 92	2559	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAA	5	7794	7809	ekkkkkkkkkkkkkkk	561
6012 93	2560	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCA	15	7795	7810	ekkkkkkkkkkkkkkk	562
6012 94	2561	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCC	3	7796	7811	ekkkkkkkkkkkkkkk	563
6012 29	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACC	15	7797	7812	ekkkkkkkkkkkkkkk	564
6012 95	2562	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACC	5	7797	7812	ekkkkkkkkkkkkkkk	564
6012 30	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAAC	14	7798	7813	ekkkkkkkkkkkkkkk	565
6012 96	2563	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAAC	0	7798	7813	ekkkkkkkkkkkkkkk	565
6012 31	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAA	14	7799	7814	ekkkkkkkkkkkkkkk	566
6012 97	2564	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAA	14	7799	7814	ekkkkkkkkkkkkkkk	566
6012 32	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	15	7800	7815	ekkkkkkkkkkkkkkk	567
6012 98	2565	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAA	7	7800	7815	ekkkkkkkkkkkkkkk	567
6012 33	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	ekkkkkkkkkkkkkkk	568
6012 99	2566	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	ekkkkkkkkkkkkkkk	568
6012 34	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7817	ekkkkkkkkkkkkkkk	569
6013 00	2567	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGA	9	7802	7817	ekkkkkkkkkkkkkkk	569
6012 35	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAG	3	7803	7818	ekkkkkkkkkkkkkkk	570
6013 01	2568	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAG	14	7803	7818	ekkkkkkkkkkkkkkk	570
6012 36	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATA	0	7804	7819	ekkkkkkkkkkkkkkk	571
6013 02	2569	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATA	0	7804	7819	ekkkkkkkkkkkkkkk	571
6012 37	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTAT	16	7805	7820	ekkkkkkkkkkkkkkk	572
6013 03	2570	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTAT	16	7805	7820	ekkkkkkkkkkkkkkk	572

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6012 38	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTA	11	7806	7821	ekkkdddddddkkee	573
6013 04	2571	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTA	10	7806	7821	ekkkdddddddkkee	573
6012 39	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTT	21	7807	7822	ekkkdddddddkkee	574
6013 05	2572	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTT	7	7807	7822	ekkkdddddddkkee	574
6012 40	2573	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCT	6	7808	7823	ekkkdddddddkkee	575
6012 41	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCC	10	7809	7824	ekkkdddddddkkee	576
6012 42	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC	19	7810	7825	ekkkdddddddkkee	577
6012 43	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACC	10	7811	7826	ekkkdddddddkkee	578
6012 44	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	28	7812	7827	ekkkdddddddkkee	579
6012 45	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	5	7813	7828	ekkkdddddddkkee	580
6012 46	2579	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAA	18	7814	7829	ekkkdddddddkkee	581
6012 47	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	4	7815	7830	ekkkdddddddkkee	582
6012 48	2581	2596	Exón 18	GCCCCGTGTCCAGCAGG	6	7816	7831	ekkkdddddddkkee	583
6012 49	2582	2597	Exón 18	CGCCCCGTGTCCAGCAG	18	7817	7832	ekkkdddddddkkee	584
6012 50	2583	2598	Exón 18	ACGCCCCGTGTCCAGCA	26	7818	7833	ekkkdddddddkkee	585
6012 51	2584	2599	Exón 18	CACGCCCCGTGTCCAGC	27	7819	7834	ekkkdddddddkkee	586
6012 52	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCCGTGTCCAG	21	7820	7835	ekkkdddddddkkee	587
6012 53	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCCGTGTCCA	0	7821	7836	ekkkdddddddkkee	588
6012 54	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCGTGTCC	31	7822	7837	ekkkdddddddkkee	589
6012 55	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCGTGTC	3	7823	7838	ekkkdddddddkkee	590
6012 56	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCGTGT	21	7824	7839	ekkkdddddddkkee	591
6012 57	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCGTG	47	7825	7840	ekkkdddddddkkee	592
6012 58	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCCT	48	7826	7841	ekkkdddddddkkee	593
6012 59	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	38	7827	7842	ekkkdddddddkkee	594
6012 60	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCC	33	7828	7843	ekkkdddddddkkee	595
6012 61	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	17	7829	7844	ekkkdddddddkkee	596
6012 62	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	40	7830	7845	ekkkdddddddkkee	597
6012 63	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	31	7831	7846	ekkkdddddddkkee	598



N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6012 64	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	72	7832	7847	ekkkddddddddkccc	599
6012 65	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	48	7833	7848	ekkkddddddddkccc	600
6012 66	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	64	7834	7849	ekkkddddddddkccc	601
6012 67	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	43	7835	7850	ekkkddddddddkccc	602
6012 68	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	44	7836	7851	ekkkddddddddkccc	603
6012 69	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	66	7837	7852	ekkkddddddddkccc	604
6012 70	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAA	47	7838	7853	ekkkddddddddkccc	605
5329 17	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT CA	3	7839	7858	eeeeeeeeeeeeee c	317
6012 71	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCA	26	7839	7854	ekkkddddddddkccc	606
6012 72	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTC	33	7840	7855	ekkkddddddddkccc	607
6012 73	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATT	34	7841	7856	ekkkddddddddkccc	608
6012 74	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAAT	39	7842	7857	ekkkddddddddkccc	609
5888 60	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	72	7843	7858	ekkkddddddddkccc	610
6012 75	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	65	7843	7858	ekkkddddddddkccc	610
6012 76	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTA	65	7844	7859	ekkkddddddddkccc	611
6012 77	2610	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTT	51	7845	7860	ekkkddddddddkccc	612
6012 78	2611	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTT	78	7846	7861	ekkkddddddddkccc	613
6012 79	2612	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTT	79	7847	7862	ekkkddddddddkccc	614
6012 80	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGT	70	np	np	ekkkddddddddkccc	615
6012 81	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTGTTCGCAGCTG	78	np	np	ekkkddddddddkccc	616
6012 82	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTTCGCAGCT	68	np	np	ekkkddddddddkccc	617
6012 83	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTCGCAGC	61	np	np	ekkkddddddddkccc	618

Tabla 144

Inhibición de ARNm de CFB por oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6013 06	2573	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCT	22	7808	7823	ekkdddddddkkeee	575
6013 07	2574	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCC	22	7809	7824	ekkdddddddkkeee	576
6013 08	2575	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCC	33	7810	7825	ekkdddddddkkeee	577
6013 09	2576	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACC	33	7811	7826	ekkdddddddkkeee	578
6013 10	2577	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	28	7812	7827	ekkdddddddkkeee	579
6013 11	2578	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	33	7813	7828	ekkdddddddkkeee	580
6013 12	2579	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAA	13	7814	7829	ekkdddddddkkeee	581
6013 13	2580	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	32	7815	7830	ekkdddddddkkeee	582
6013 14	2581	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGG	0	7816	7831	ekkdddddddkkeee	583
6013 15	2582	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	36	7817	7832	ekkdddddddkkeee	584
6013 16	2583	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCA	39	7818	7833	ekkdddddddkkeee	585
6013 17	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC	33	7819	7834	ekkdddddddkkeee	586
6013 56	2584	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGC	27	7819	7834	kkkdddddddkkeee	586
6013 18	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAG	35	7820	7835	ekkdddddddkkeee	587
6013 57	2585	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAG	26	7820	7835	kkkdddddddkkeee	587
6013 19	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA	33	7821	7836	ekkdddddddkkeee	588
6013 58	2586	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCA	26	7821	7836	kkkdddddddkkeee	588
6013 20	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC	25	7822	7837	ekkdddddddkkeee	589
6013 59	2587	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCC	23	7822	7837	kkkdddddddkkeee	589
6013 21	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTC	50	7823	7838	ekkdddddddkkeee	590
6013 60	2588	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTC	33	7823	7838	kkkdddddddkkeee	590
6013 22	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT	52	7824	7839	ekkdddddddkkeee	591
6013 61	2589	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGT	48	7824	7839	kkkdddddddkkeee	591
6013 23	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTG	67	7825	7840	ekkdddddddkkeee	592
6013 62	2590	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTG	51	7825	7840	kkkdddddddkkeee	592
6013 24	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCT	42	7826	7841	ekkdddddddkkeee	593
6013 63	2591	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCT	42	7826	7841	kkkdddddddkkeee	593
6013 25	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	52	7827	7842	ekkdddddddkkeee	594

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6013 64	2592	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCC	48	7827	7842	kkkdddddddkkeee	594
6013 26	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCC	27	7828	7843	ekkdddddddkkeee	595
6013 65	2593	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCC	36	7828	7843	kkkdddddddkkeee	595
6013 27	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	66	7829	7844	ekkdddddddkkeee	596
6013 66	2594	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCC	49	7829	7844	kkkdddddddkkeee	596
6013 28	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	55	7830	7845	ekkdddddddkkeee	597
6013 67	2595	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGC	57	7830	7845	kkkdddddddkkeee	597
6013 29	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	69	7831	7846	ekkdddddddkkeee	598
6013 68	2596	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACG	68	7831	7846	kkkdddddddkkeee	598
6013 30	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	58	7832	7847	ekkdddddddkkeee	599
6013 69	2597	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCAC	65	7832	7847	kkkdddddddkkeee	599
6013 31	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	45	7833	7848	ekkdddddddkkeee	600
6013 70	2598	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCA	42	7833	7848	kkkdddddddkkeee	600
6013 32	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	84	7834	7849	ekkdddddddkkeee	601
6013 71	2599	2614	Exón 18	GTTTTAATTCAATCCC	79	7834	7849	kkkdddddddkkeee	601
6013 33	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	61	7835	7850	ekkdddddddkkeee	602
6013 72	2600	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCC	71	7835	7850	kkkdddddddkkeee	602
6013 34	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	61	7836	7851	ekkdddddddkkeee	603
6013 73	2601	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATC	57	7836	7851	kkkdddddddkkeee	603
6013 35	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	73	7837	7852	ekkdddddddkkeee	604
6013 74	2602	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAAT	66	7837	7852	kkkdddddddkkeee	604
6013 36	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAA	64	7838	7853	ekkdddddddkkeee	605
6013 75	2603	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAA	61	7838	7853	kkkdddddddkkeee	605
5329 17	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTAAAT CA	66	7839	7858	eeeeedddddddde eeee	317
6013 37	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTAAATTCA	53	7839	7854	ekkdddddddkkeee	606
6013 76	2604	2619	Exón 18	CAGCTGTTTAAATTCA	39	7839	7854	kkkdddddddkkeee	606
6013 38	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTAAATTC	67	7840	7855	ekkdddddddkkeee	607
6013 77	2605	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTAAATTC	67	7840	7855	kkkdddddddkkeee	607

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6013 39	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATT	63	7841	7856	ekkdddddddkkeee	608
6013 78	2606	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTAAATT	60	7841	7856	kkkdddddddkkeee	608
6013 40	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAAT	40	7842	7857	ekkdddddddkkeee	609
6013 79	2607	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTAAAT	36	7842	7857	kkkdddddddkkeee	609
5888 60	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	84	7843	7858	eekdddddddkke	610
6013 41	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	74	7843	7858	ekkdddddddkkeee	610
6013 80	2608	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	78	7843	7858	kkkdddddddkkeee	610
6013 42	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	68	7844	7859	ekkdddddddkkeee	611
6013 81	2609	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	66	7844	7859	kkkdddddddkkeee	611
6013 43	2610	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTT	71	7845	7860	ekkdddddddkkeee	612
6013 82	2610	2625	Exón 18	TTGTCGCAGCTGTTTT	84	7845	7860	kkkdddddddkkeee	612
6013 44	2611	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	87	7846	7861	ekkdddddddkkeee	613
6013 83	2611	2626	Exón 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	85	7846	7861	kkkdddddddkkeee	613
6013 45	2612	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	82	7847	7862	ekkdddddddkkeee	614
6013 84	2612	2627	Exón 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	79	7847	7862	kkkdddddddkkeee	614
6013 46	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGT	73	np	np	ekkdddddddkkeee	615
6013 85	2613	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGT	84	np	np	kkkdddddddkkeee	615
6013 47	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTGTCGCAGCTG	70	np	np	ekkdddddddkkeee	616
6013 86	2614	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTGTCGCAGCTG	71	np	np	kkkdddddddkkeee	616
6013 48	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCT	71	np	np	ekkdddddddkkeee	617
6013 87	2615	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTGTCGCAGCT	76	np	np	kkkdddddddkkeee	617



N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de para- da SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
6013 49	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTGTCGCAGC	71	np	np	ckkdddddddkkecc	618
6013 88	2616	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTGTCGCAGC	67	np	np	kkkdddddddkkeccc	618

**Tabla 145**

Inhibición de ARNm de CFB por gámpmeros MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
5993 57	2582	2600	Exón 18	CCACGCCCCTGTCCAGCAG	26	7817	7835	5-9-5	708
5993 58	2583	2601	Exón 18	CCCACGCCCCTGTCCAGCA	22	7818	7836	5-9-5	709
5993 59	2584	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCTGTCCAGC	13	7819	7837	5-9-5	710
5993 60	2585	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCTGTCCAG	7	7820	7838	5-9-5	711
5993 61	2586	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCTGTCCA	11	7821	7839	5-9-5	712
5993 62	2587	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCTGTCC	14	7822	7840	5-9-5	713
5993 63	2588	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCTGTC	17	7823	7841	5-9-5	714
5993 64	2589	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCTGT	20	7824	7842	5-9-5	715
5993 65	2590	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCCTG	22	7825	7843	5-9-5	716
5993 66	2591	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCCT	13	7826	7844	5-9-5	717
5993 67	2592	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCC	11	7827	7845	5-9-5	718
5993 68	2593	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCC	10	7828	7846	5-9-5	719
5993 69	2594	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	19	7829	7847	5-9-5	720
5993 70	2595	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	23	7830	7848	5-9-5	721
5993 71	2596	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCCACG	4	7831	7849	5-9-5	722
5993 72	2597	2615	Exón 18	TGTTTAAATTCAATCCCAC	16	7832	7850	5-9-5	723
5993 73	2598	2616	Exón 18	CTGTTTAAATTCAATCCCA	3	7833	7851	5-9-5	724
5993 74	2599	2617	Exón 18	GCTGTTTAAATTCAATCCC	10	7834	7852	5-9-5	725

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
5993 75	2600	2618	Exón 18	AGCTGTTTTTAATTCAATCC	17	7835	7853	5-9-5	726
5993 76	2601	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTTAATTCAATC	18	7836	7854	5-9-5	727
5993 77	2602	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTTAATTCAAT	22	7837	7855	5-9-5	728
5993 78	2603	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTTAATTCAA	11	7838	7856	5-9-5	729
5995 11	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTC A	7	7787	7806	6-8-6	410
5993 89	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCT C	22	7788	7807	6-8-6	411
5993 90	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCC T	21	7789	7808	6-8-6	412
5993 91	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATC C	27	7790	7809	6-8-6	413
5993 92	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAAT C	30	7791	7810	6-8-6	414
5993 93	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAA T	30	7792	7811	6-8-6	415
5993 94	2558	2577	Exón 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA A	28	7793	7812	6-8-6	416
5993 95	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCA A	23	7794	7813	6-8-6	417
5993 96	2560	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCC A	53	7795	7814	6-8-6	418
5993 97	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACC C	33	7796	7815	6-8-6	419
5993 98	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAAC C	58	7797	7816	6-8-6	420
5993 99	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAA C	23	7798	7817	6-8-6	421
5994 00	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA A	54	7799	7818	6-8-6	422
5994 01	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAA A	30	7800	7819	6-8-6	423
5994 02	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGA A	25	7801	7820	6-8-6	424
5994 03	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAG A	17	7802	7821	6-8-6	425
5994 04	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATA G	20	7803	7822	6-8-6	426
5994 05	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTAT A	12	7804	7823	6-8-6	427
5994 06	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTA T	51	7805	7824	6-8-6	428
5994 07	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTT A	39	7806	7825	6-8-6	237
5994 08	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCT T	53	7807	7826	6-8-6	429
5994 09	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCC T	65	7808	7827	6-8-6	430
5994 10	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC C	56	7809	7828	6-8-6	431
5994 11	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACC C	60	7810	7829	6-8-6	432

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de para- da SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
5994 12	2576	2595	Exón 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAAC C	61	7811	7830	6-8-6	433
5994 13	2577	2596	Exón 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAA C	40	7812	7831	6-8-6	238
5994 14	2578	2597	Exón 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAA A	41	7813	7832	6-8-6	434
5994 15	2579	2598	Exón 18	ACGCCCCCTGTCCAGCAGGA A	37	7814	7833	6-8-6	435
5994 16	2580	2599	Exón 18	CACGCCCCCTGTCCAGCAGG A	54	7815	7834	6-8-6	436
5994 17	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCCCTGTCCAGCAG G	36	7816	7835	6-8-6	437
5994 18	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCCCTGTCCAGCA G	53	7817	7836	6-8-6	438
5994 19	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCCTGTCCAGC A	54	7818	7837	6-8-6	439
5994 20	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCCTGTCCAG C	50	7819	7838	6-8-6	440
5994 21	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCCTGTCCA G	48	7820	7839	6-8-6	441
5994 22	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCCTGTCC A	55	7821	7840	6-8-6	442
5994 23	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCCTGTCC C	75	7822	7841	6-8-6	443
5994 24	2588	2607	Exón 18	TTCATCCCACGCCCCCTGTCC C	69	7823	7842	6-8-6	444
5994 25	2589	2608	Exón 18	ATTCATCCCACGCCCCCTGTCC C	77	7824	7843	6-8-6	445
5994 26	2590	2609	Exón 18	AATTCATCCCACGCCCCCTGTCC G	60	7825	7844	6-8-6	446
5994 27	2591	2610	Exón 18	TAATTCATCCCACGCCCCCTGTCC C	72	7826	7845	6-8-6	447
5994 28	2592	2611	Exón 18	TTAATTCATCCCACGCCCCCTGTCC C	81	7827	7846	6-8-6	448
5994 29	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCATCCCACGCCCCCTGTCC C	68	7828	7847	6-8-6	449
5994 30	2594	2613	Exón 18	TTTTAATTCATCCCACGCCCCCTGTCC C	58	7829	7848	6-8-6	450
5994 31	2595	2614	Exón 18	GTTTTAATTCATCCCACGCCCCCTGTCC C	70	7830	7849	6-8-6	451
5994 32	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCATCCCACGCCCCCTGTCC C	85	7831	7850	6-8-6	452
5329 17	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	85	7839	7858	5-10-5	317
5993 79	2604	2622	Exón 18	TGCGCAGCTGTTTTAATTCA	73	7839	7857	5-9-5	730
5993 80	2605	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	77	7840	7858	5-9-5	731
5993 81	2606	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATT	69	7841	7859	5-9-5	732
5993 82	2607	2625	Exón 18	TTGTGCAGCTGTTTTAAT	58	7842	7860	5-9-5	733
5993 83	2608	2626	Exón 18	GTTGTGCAGCTGTTTTAA	52	7843	7861	5-9-5	734
5993 84	2609	2627	Exón 18	TGTTGTGCAGCTGTTTTA	63	7844	7862	5-9-5	735

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
5993 85	2610	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCGCAGCTGTTTT	53	np	np	5-9-5	736
5993 86	2611	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTCGCAGCTGTTT	63	np	np	5-9-5	737
5993 87	2612	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTCGCAGCTGTT	64	np	np	5-9-5	438
5993 88	2613	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTCGCAGCTGT	66	np	np	5-9-5	739

Tabla 146

Inhibición de ARNm de CFB por gámperos MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% Inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599213	2553	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTC	0	7788	7805	3-10-5	785
599214	2554	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCT	0	7789	7806	3-10-5	786
599215	2555	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATC	36	7790	7807	3-10-5	787
599216	2556	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATC	8	7791	7808	3-10-5	788
599217	2557	2574	Exón 18	CTATATAGAAAACCCAAAT	5	7792	7809	3-10-5	789
599218	2558	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7810	3-10-5	790
599219	2559	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAA	8	7794	7811	3-10-5	791
599220	2560	2577	Exón 18	CCCCCTTATAGAAAACCCA	0	7795	7812	3-10-5	740
599221	2561	2578	Exón 18	ACCCCCTTATAGAAAACCT	54	7796	7813	3-10-5	741
599222	2562	2579	Exón 18	AACCCCTTATAGAAAACCT	3	7797	7814	3-10-5	742
599223	2563	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAAC	0	7798	7815	3-10-5	743
599224	2564	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAA	0	7799	7816	3-10-5	744
599225	2566	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAA	60	7801	7818	3-10-5	745
599226	2567	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7819	3-10-5	746
599227	2568	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAG	37	7803	7820	3-10-5	747
599228	2569	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATA	0	7804	7821	3-10-5	748
599229	2570	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTAT	39	7805	7822	3-10-5	749
599230	2571	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTA	10	7806	7823	3-10-5	750
599231	2572	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTT	16	7807	7824	3-10-5	751
599232	2573	2590	Exón 18	CTCCAGCAGGAAACCCCT	9	7808	7825	3-10-5	752
599233	2574	2591	Exón 18	TGTCAGCAGGAAACCCCT	44	7809	7826	3-10-5	753
599234	2575	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCC	14	7810	7827	3-10-5	754
599235	2576	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC	0	7811	7828	3-10-5	755
599236	2577	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAAC	43	7812	7829	3-10-5	756
599237	2578	2595	Exón 18	CCCCGTGTCCAGCAGGAAA	0	7813	7830	3-10-5	757
599238	2580	2597	Exón 18	CCCTGTGTCCAGCAGGAA	9	7815	7832	3-10-5	758
599239	2581	2598	Exón 18	ACGCCCCGTGTCCAGCAGG	36	7816	7833	3-10-5	759
599240	2582	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAG	11	7817	7834	3-10-5	760



N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% Inhi- bi- ción	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599241	2583	2600	Exón 18	CCACGCCCCCTGTCCAGCA	51	7818	7835	3-10-5	761
599242	2584	2601	Exón 18	CCCACGCCCCCTGTCCAGC	7	7819	7836	3-10-5	762
599243	2585	2602	Exón 18	TCCCACGCCCCCTGTCCAG	47	7820	7837	3-10-5	763
599244	2586	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCCCTGTCCA	37	7821	7838	3-10-5	764
599245	2587	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCCCTGTCC	35	7822	7839	3-10-5	765
599246	2588	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCCCTGTC	21	7823	7840	3-10-5	766
599247	2589	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCCCTGT	61	7824	7841	3-10-5	767
599248	2590	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCCCTG	51	7825	7842	3-10-5	768
599249	2591	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCCCT	58	7826	7843	3-10-5	769
599250	2592	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCCC	49	7827	7844	3-10-5	770
599251	2593	2610	Exón 18	TAATTCAATCCACGCCCCC	46	7828	7845	3-10-5	771
599252	2594	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCACGCCCC	32	7829	7846	3-10-5	772
599253	2595	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCACGCCCC	23	7830	7847	3-10-5	773
599254	2596	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCACGCCCC	0	7831	7848	3-10-5	774
599255	2597	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCACGCCCC	61	7832	7849	3-10-5	775
599256	2598	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCACGCCCC	64	7833	7850	3-10-5	776
599257	2599	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCACGCCCC	66	7834	7851	3-10-5	777
599258	2600	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCACGCCCC	59	7835	7852	3-10-5	778
599259	2601	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCACGCCCC	40	7836	7853	3-10-5	779
599260	2602	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATCCACGCCCC	38	7837	7854	3-10-5	780
599261	2603	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAATCCACGCCCC	54	7838	7855	3-10-5	781
599509	2552	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCCTC	54	7787	7805	6-7-6	681
599273	2553	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCCTC	0	7788	7806	6-7-6	682
599274	2554	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCCTC	57	7789	7807	6-7-6	683
599275	2556	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCCCTC	0	7791	7809	6-7-6	684
599276	2557	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATCCCTC	44	7792	7810	6-7-6	685
599277	2558	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAATCCCTC	0	7793	7811	6-7-6	686
599278	2559	2577	Exón 18	CCCCCTTATAGAAAACCCAAATCCCTC	0	7794	7812	6-7-6	687
599279	2560	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAAATCCCTC	20	7795	7813	6-7-6	688
599280	2561	2579	Exón 18	AACCCCCTTATAGAAAACCCAAATCCCTC	70	7796	7814	6-7-6	689
532917	2604	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	85	7839	7858	5-10-5	317
599262	2604	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCA	49	7839	7856	3-10-5	782
599263	2605	2622	Exón 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCA	49	7840	7857	3-10-5	783
599264	2606	2623	Exón 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT	62	7841	7858	3-10-5	784
599265	2607	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATT	63	7842	7859	3-10-5	792
599266	2608	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTAA	41	7843	7860	3-10-5	793
599267	2609	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTTAA	52	7844	7861	3-10-5	794
599268	2610	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTT	51	7845	7862	3-10-5	795
599269	2611	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTTTT	58	np	np	3-10-5	796
599270	2612	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTTGTCGCAGCTGTTT	69	np	np	3-10-5	797
599271	2613	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTTGTCGCAGCTGT	69	np	np	3-10-5	798
599272	2614	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTTGTCGCAGCTG	72	np	np	3-10-5	799
599205	2607	2624	Exón 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATT	54	7842	7859	5-8-5	792
599206	2608	2625	Exón 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTAA	62	7843	7860	5-8-5	793
599207	2609	2626	Exón 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTTAA	62	7844	7861	5-8-5	794

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% Inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	Motivo	SEQ ID NO:
599208	2610	2627	Exón 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTT	66	7845	7862	5-8-5	795
599209	2611	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTTCGCAGCTGTTT	60	np	np	5-8-5	796
599210	2612	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTTCGCAGCTGTT	62	np	np	5-8-5	797
599211	2613	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTTCGCAGCTGT	65	np	np	5-8-5	798
599212	2614	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTTCGCAGCTG	67	np	np	5-8-5	799

Tabla 147

Inhibición de ARNm de CFB por gápmers 5-10-5 MOE dirigidos a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
588570	150	169	Exón 1	TGGTCACATTCCCTTCCCT	72	1871	1890	396
588571	152	171	Exón 1	CCTGGTCACATTCCCTTCCC	80	1873	1892	397
532614	154	173	Exón 1	GACCTGGTCACATTCCCTTC	65	1875	1894	12
588572	156	175	Exón 1	TAGACCTGGTCACATTCCCT	74	1877	1896	398
588573	158	177	Exón 1	CCTAGACCTGGTCACATTCC	72	1879	1898	399
588566	2189	2208	Exón 15	CCTTCCGAGTCAGCTTTTT	66	6977	6996	400
588567	2191	2210	Exón 15	CTCCTTCCGAGTCAGCTTTT	66	6979	6998	401
532770	2193	2212	Exón 15	ACCTCCTTCCGAGTCAGCTT	64	6981	7000	198
588568	2195	2214	Exón 15	AGACCTCCTTCCGAGTCAGC	78	6983	7002	402
588569	2197	2216	Exón 15	GTAGACCTCCTTCCGAGTCA	74	6985	7004	403
588574	2453	2472	Exón 18	TTTGCCGCTTCTGGTTTTG	71	7688	7707	404
588575	2455	2474	Exón 18	CTTTTGCCGCTTCTGGTTTT	72	7690	7709	405
532800	2457	2476	Exón 18	TGCTTTTGCCGCTTCTGGTT	71	7692	7711	228
588576	2459	2478	Exón 18	CCTGCTTTTGCCGCTTCTGG	59	7694	7713	406
588577	2461	2480	Exón 18	TACCTGCTTTTGCCGCTTCT	76	7696	7715	407
516350	2550	2569	Exón 18	AGAAAACCCAAATCCTCATC	58	7785	7804	408
588509	2551	2570	Exón 18	TAGAAAACCCAAATCCTCAT	6	7786	7805	409
588510	2552	2571	Exón 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	10	7787	7806	410
588511	2553	2572	Exón 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	9	7788	7807	411
588512	2554	2573	Exón 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	80	7789	7808	412
588513	2555	2574	Exón 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	70	7790	7809	413
588514	2556	2575	Exón 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	71	7791	7810	414
588515	2557	2576	Exón 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	78	7792	7811	415
588516	2558	2577	Exón 18	CCCCCTTATAGAAAACCCAAA	72	7793	7812	416
588517	2559	2578	Exón 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	80	7794	7813	417
588518	2560	2579	Exón 18	AACCCCCTTATAGAAAACCCA	80	7795	7814	418
588519	2561	2580	Exón 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	62	7796	7815	419

N.º ISIS	Sitio de inicio SEQ ID NO: 1	Sitio de parada SEQ ID NO: 1	Región diana	Secuencia	% inhibición	Sitio de inicio SEQ ID NO: 2	Sitio de parada SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO:
588520	2562	2581	Exón 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	59	7797	7816	420
588521	2563	2582	Exón 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	40	7798	7817	421
588522	2564	2583	Exón 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA	66	7799	7818	422
588523	2565	2584	Exón 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	63	7800	7819	423
588524	2566	2585	Exón 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	70	7801	7820	424
588525	2567	2586	Exón 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	67	7802	7821	425
588526	2568	2587	Exón 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	0	7803	7822	426
588527	2569	2588	Exón 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	11	7804	7823	427
588528	2570	2589	Exón 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	15	7805	7824	428
532809	2571	2590	Exón 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	75	7806	7825	237
588529	2572	2591	Exón 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	16	7807	7826	429
588530	2573	2592	Exón 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	16	7808	7827	430
588531	2574	2593	Exón 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC	19	7809	7828	431
588532	2575	2594	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	15	7810	7829	432
588533	2576	2595	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACC	29	7811	7830	433
532810	2577	2596	Exón 18	CCCTGTCCAGCAGGAAAC	74	7812	7831	238
588534	2578	2597	Exón 18	CGCCCTGTCCAGCAGGAAA	21	7813	7832	434
588535	2579	2598	Exón 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGAA	16	7814	7833	435
588536	2580	2599	Exón 18	CACGCCCTGTCCAGCAGGA	0	7815	7834	436
588537	2581	2600	Exón 18	CCACGCCCTGTCCAGCAGG	8	7816	7835	437
588538	2582	2601	Exón 18	CCCACGCCCTGTCCAGCAG	10	7817	7836	438
588539	2583	2602	Exón 18	TCCCACGCCCTGTCCAGCA	23	7818	7837	439
588540	2584	2603	Exón 18	ATCCCACGCCCTGTCCAGC	16	7819	7838	440
588541	2585	2604	Exón 18	AATCCCACGCCCTGTCCAG	16	7820	7839	441
588542	2586	2605	Exón 18	CAATCCCACGCCCTGTCCA	12	7821	7840	442
588543	2587	2606	Exón 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	26	7822	7841	443
588544	2588	2607	Exón 18	TTCAATCCCACGCCCTGTCC	26	7823	7842	444
588545	2589	2608	Exón 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	31	7824	7843	445
588546	2590	2609	Exón 18	AATTCAATCCCACGCCCTG	22	7825	7844	446
588547	2591	2610	Exón 18	TAATTCAATCCCACGCCCT	12	7826	7845	447
588548	2592	2611	Exón 18	TTAATTCAATCCCACGCCCT	20	7827	7846	448
588549	2593	2612	Exón 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	26	7828	7847	449
588550	2594	2613	Exón 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	32	7829	7848	450
588551	2595	2614	Exón 18	GTTTAAATTCAATCCCACGC	48	7830	7849	451
588552	2596	2615	Exón 18	TGTTTTAATTCAATCCCACG	57	7831	7850	452
588553	2597	2616	Exón 18	CTGTTTTAATTCAATCCCAC	49	7832	7851	453
588554	2598	2617	Exón 18	GCTGTTTTAATTCAATCCCA	64	7833	7852	454
532811	2599	2618	Exón 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	78	7834	7853	239
588555	2600	2619	Exón 18	CAGCTGTTTTAATTCAATCC	48	7835	7854	455
588556	2601	2620	Exón 18	GCAGCTGTTTTAATTCAATC	55	7836	7855	456
588557	2602	2621	Exón 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAAT	51	7837	7856	457
588558	2603	2622	Exón 18	TCCGAGCTGTTTTAATTCAA	51	7838	7857	458
532917	2604	2623	Exón 18	GTCCGAGCTGTTTTAATTCA	82	7839	7858	317
588559	2605	2624	Exón 18	TGTCCGAGCTGTTTTAATTC	58	7840	7859	459
588560	2606	2625	Exón 18	TTGTCCGAGCTGTTTTAATT	72	7841	7860	460
588561	2607	2626	Exón 18	GTTGTCCGAGCTGTTTAAAT	75	7842	7861	461
532952	2608	2627	Exón 18	TGTTGTCCGAGCTGTTTAA	39	7843	7862	395
588562	2609	2628	Exón 18 / Repetición	TTGTTGTCCGAGCTGTTTAA	53	np	np	462
588563	2610	2629	Exón 18 / Repetición	TTTGTGTGTCCGAGCTGTTTT	62	np	np	463
588564	2611	2630	Exón 18 / Repetición	TTTTGTGTGTCCGAGCTGTTT	63	np	np	464
588565	2612	2631	Exón 18 / Repetición	TTTTTGTGTGTCCGAGCTGTT	64	np	np	465

**Ejemplo 122: inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB humano en células HepG2 por gámpmeros 5-10-5 MOE**

Los gámpmeros de los estudios descritos anteriormente que muestran inhibición *in vitro* de ARNm de CFB se seleccionaron y se sometieron a prueba a diversas dosis en células HepG2. Se prepararon células a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 0,313  $\mu\text{M}$ , 0,625  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,50  $\mu\text{M}$ , 5,00  $\mu\text{M}$  o 10,00  $\mu\text{M}$  de oligonucleótido antisentido, como se especifica en la tabla a continuación. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora semimáxima ( $\text{CI}_{50}$ ) de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de CFB se redujeron de manera dependiente de la dosis en las células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

**Tabla 148**

N.º ISIS	0,313 $\mu\text{M}$	0,625 $\mu\text{M}$	1,25 $\mu\text{M}$	2,50 $\mu\text{M}$	5,00 $\mu\text{M}$	10,00 $\mu\text{M}$	$\text{CI}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
532614	7	13	43	72	65	71	2,2
532635	12	0	3	28	0	0	>10
532692	26	0	12	52	55	74	3,7
532770	21	18	32	73	64	88	1,8
532775	8	0	26	35	47	59	6,2
532800	0	5	30	65	50	75	3,1
532809	12	30	28	40	46	66	4,6
532810	28	44	32	69	84	95	1,2
532811	66	83	90	94	97	99	<0,3
532917	64	85	88	96	97	99	<0,3
532952	50	53	68	80	91	94	0,4

**Ejemplo 123: inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB humano en células HepG2**

Los gámpmeros de los estudios descritos anteriormente que muestran inhibición *in vitro* de ARNm de CFB se seleccionaron y se sometieron a prueba a diversas dosis en células HepG2. Los oligonucleótidos antisentido se sometieron a prueba en un número de experimentos con condiciones de cultivo similares. Los resultados de cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se prepararon células a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 0,08  $\mu\text{M}$ , 0,25  $\mu\text{M}$ , 0,74  $\mu\text{M}$ , 2,22  $\mu\text{M}$ , 6,67  $\mu\text{M}$  y 20,00  $\mu\text{M}$  de oligonucleótido antisentido, como se especifica en la tabla a continuación. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora semimáxima ( $\text{CI}_{50}$ ) de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de CFB se redujeron de manera dependiente de la dosis en las células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

**Tabla 149**

N.º ISIS	0,08 $\mu\text{M}$	0,25 $\mu\text{M}$	0,74 $\mu\text{M}$	2,22 $\mu\text{M}$	6,67 $\mu\text{M}$	20,00 $\mu\text{M}$	$\text{CI}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
532811	19	53	81	87	96	97	0,2
588834	7	42	64	92	98	98	0,5
588835	11	30	66	89	97	97	0,5
588836	14	40	61	91	97	97	0,5
588837	6	39	67	89	96	97	0,5
588838	0	27	41	81	87	97	1,0
588842	17	51	68	86	93	95	0,3
588843	21	38	72	90	95	96	0,4

# ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	0,08 µM	0,25 µM	0,74 µM	2,22 µM	6,67 µM	20,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
588870	9	31	56	88	95	97	0,6
588871	14	25	47	79	93	97	0,7
588872	18	28	59	84	92	97	0,6

**Tabla 150**

N.º ISIS	0,08 µM	0,25 µM	0,74 µM	2,22 µM	6,67 µM	20,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
532811	31	70	89	94	97	97	0,1
588844	31	60	77	91	95	96	0,1
588846	32	52	78	89	95	97	0,2
588847	22	52	77	91	95	97	0,2
588848	20	40	73	91	96	98	0,3
588851	40	52	82	94	97	97	0,1
588854	17	55	59	84	94	96	0,4
588855	10	32	56	82	93	96	0,6
588856	13	46	75	90	96	97	0,3
588857	11	52	73	94	96	97	0,3
588858	19	48	75	94	97	98	0,3

**Tabla 151**

N.º ISIS	0,08 µM	0,25 µM	0,74 µM	2,22 µM	6,67 µM	20,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
532811	42	66	88	96	97	98	0,1
588859	18	46	66	90	96	97	0,4
588860	55	80	94	97	97	97	<0,1
588861	24	61	86	93	96	97	0,2
588862	25	64	85	94	96	98	0,1
588863	50	73	89	96	96	98	<0,1
588864	52	80	92	96	98	98	<0,1
588865	46	72	91	96	96	99	<0,1
588866	47	76	88	96	97	98	<0,1
588867	43	69	83	92	96	99	0,1
588868	43	56	65	84	93	97	0,1

**Tabla 152**

N.º ISIS	0,08 µM	0,25 µM	0,74 µM	2,22 µM	6,67 µM	20,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
532810	0	14	38	72	89	96	1,2
532811	18	54	79	93	96	97	0,3
532952	19	34	73	87	94	96	0,4
588534	17	13	44	77	93	97	0,9

N.º ISIS	0,08 µM	0,25 µM	0,74 µM	2,22 µM	6,67 µM	20,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
588544	12	43	69	86	89	93	0,4
588545	17	55	67	86	91	93	0,3
588546	10	32	67	85	91	93	0,6
588552	27	54	76	90	94	97	0,2
588553	32	68	87	93	95	97	0,1
588560	16	54	76	90	94	96	0,3
588561	18	45	68	85	93	96	0,4

**Tabla 153**

N.º ISIS	0,08 µM	0,25 µM	0,74 µM	2,22 µM	6,67 µM	20,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
532811	22	60	82	94	97	98	0,2
588536	2	38	65	90	96	97	0,6
588537	12	38	63	87	94	97	0,5
588547	19	35	61	86	93	97	0,5
588548	19	36	75	88	95	96	0,4
588554	0	76	92	95	97	97	<0,1
588555	31	61	89	96	97	98	0,1
588556	33	56	82	95	94	97	0,1
588562	12	39	71	87	94	97	0,4
588563	25	48	72	86	94	96	0,3
588564	15	33	63	89	91	97	0,5

**5 Tabla 154**

N.º ISIS	0,08 µM	0,25 µM	0,74 µM	2,22 µM	6,67 µM	20,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
532811	39	68	86	96	98	98	0,1
588538	0	40	82	94	97	98	0,3
588539	34	65	88	95	98	98	0,1
588540	30	51	81	91	97	98	0,2
588549	31	57	82	95	96	98	0,1
588550	34	65	88	96	98	98	0,1
588551	47	66	87	96	98	99	<0,1
588557	40	84	95	98	98	98	<0,1
588558	45	73	93	97	98	99	<0,1
588559	51	69	83	96	98	99	<0,1
588565	19	56	81	92	96	98	0,2

**Ejemplo 124: inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB humano en células HepG2**

- 10 Los gámpmeros de los estudios descritos anteriormente que muestran inhibición *in vitro* de ARNm de CFB se seleccionaron y se sometieron a prueba a diversas dosis en células HepG2. Los oligonucleótidos antisentido se

sometieron a prueba en un número de experimentos con condiciones de cultivo similares. Los resultados de cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Se prepararon células a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 0,06  $\mu\text{M}$ , 0,25  $\mu\text{M}$ , 1,00  $\mu\text{M}$  y 4,00  $\mu\text{M}$  de oligonucleótido antisentido, como se especifica en la tabla a continuación. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora semimáxima ( $\text{CI}_{50}$ ) de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de CFB se redujeron de manera dependiente de la dosis en las células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

**Tabla 155**

N.º ISIS	0,06 $\mu\text{M}$	0,25 $\mu\text{M}$	1,00 $\mu\text{M}$	4,00 $\mu\text{M}$	$\text{CI}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
532917	31	58	87	92	0,2
588860	18	50	79	93	0,3
599001	16	28	69	90	0,5
599024	14	32	74	90	0,4
599025	0	31	56	92	0,7
599032	28	44	62	88	0,3
599033	28	46	80	92	0,2
599077	8	20	59	80	0,8
599080	9	33	48	76	0,9
599086	7	22	53	83	0,8
599087	21	31	74	87	0,4
599088	13	37	69	82	0,5
599089	3	36	55	79	0,7
599093	25	59	79	88	0,2
599094	19	29	75	89	0,4
599095	29	43	67	87	0,3
599096	23	51	70	88	0,3
599149	20	53	82	92	0,3
599188	0	21	62	85	0,8

**Tabla 156**

N.º ISIS	0,06 $\mu\text{M}$	0,25 $\mu\text{M}$	1,00 $\mu\text{M}$	4,00 $\mu\text{M}$	$\text{CI}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
532917	0	42	81	91	0,4
588860	17	49	74	92	0,3
599155	29	52	67	87	0,3
599198	3	25	64	89	0,6
599201	13	26	67	91	0,5
599202	0	44	72	87	0,5
599203	22	41	75	88	0,3

# ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	0,06 µM	0,25 µM	1,00 µM	4,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
599314	12	34	71	84	0,5
599316	7	37	66	88	0,5
599317	8	1	54	83	1,0
599321	8	33	70	85	0,5
599322	24	38	66	87	0,4
599327	22	32	66	89	0,4
599328	0	31	59	88	0,7
599330	5	43	67	84	0,5
599374	23	42	80	91	0,3
599378	21	57	80	93	0,2
599380	23	56	82	93	0,2
599432	17	37	73	93	0,4

**Tabla 157**

N.º ISIS	0,06 µM	0,25 µM	1,00 µM	4,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
532917	23	65	76	93	0,2
588860	17	60	76	90	0,3
601282	48	68	81	88	0,1
601269	18	59	80	94	0,2
601276	34	64	81	91	0,1
601275	14	39	78	90	0,4
601344	52	84	92	94	<0,06
601383	53	81	86	94	<0,06
601382	41	76	88	94	0,1
601385	52	74	89	91	<0,06
601332	41	69	86	94	0,1
601345	36	75	86	95	0,1
601371	34	72	91	93	0,1
601384	50	78	91	95	<0,06
601380	28	57	83	92	0,2
601387	48	61	82	88	0,1
601341	28	65	83	91	0,2
601346	31	69	82	93	0,1
601335	24	56	85	92	0,2

**Tabla 158**

N.º ISIS	0,06 µM	0,25 µM	1,00 µM	4,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
532917	31	66	86	93	0,1



# ES 2 941 742 T3

N.º ISIS	0,06 µM	0,25 µM	1,00 µM	4,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
588860	28	62	85	94	0,2
599208	24	50	71	89	0,3
599261	31	49	81	94	0,2
599267	41	48	80	88	0,2
599268	28	56	75	92	0,2
599313	14	24	71	92	0,5
599441	24	57	80	87	0,2
599494	13	55	86	94	0,3
599552	30	69	93	95	0,1
599553	34	71	93	96	0,1
599554	30	74	93	96	0,1
599568	40	77	90	97	0,1
599570	61	82	93	96	<0,06
599577	18	62	81	93	0,2
599581	27	60	80	94	0,2
599591	49	74	93	96	<0,06
599592	46	76	90	94	0,1
599593	44	72	91	95	0,1

**Tabla 159**

N.º ISIS	0,06 µM	0,25 µM	1,00 µM	4,00 µM	Cl <sub>50</sub> (µM)
532917	25	56	84	92	0,2
588860	11	51	80	92	0,3
599547	23	60	82	90	0,2
599569	42	73	85	88	0,1
599578	29	49	82	89	0,2
599582	21	56	78	91	0,2
599590	24	62	80	90	0,2
601209	21	49	85	88	0,3
601210	34	64	86	92	0,1
601212	46	68	88	90	0,1
601213	54	80	90	92	<0,06
601214	38	77	88	95	0,1
601215	42	64	85	92	0,1
601216	45	57	76	89	0,1
601264	29	58	86	95	0,2
601278	51	82	83	93	<0,06
601279	44	80	92	96	0,1
601280	44	73	87	94	0,1

601281	51	80	91	94	<0,06
--------	----	----	----	----	-------

#### Ejemplo 125: inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB humano en células HepG2

Los gápmers de los estudios descritos anteriormente que muestran inhibición *in vitro* de ARNm de CFB se seleccionaron y se sometieron a prueba a diversas dosis en células HepG2. Adicionalmente, se diseñó un

oligonucleótido desoxi, MOE y (S)-cEt, ISIS 594430, con la misma secuencia (CTCCTTCCGAGTCAGC, SEQ ID NO: 549) y la región diana (sitio de inicio diana 2195 de SEQ ID NO: 1 y sitio de inicio diana 6983 de SED ID NO: 2) como ISIS 588870, otro oligonucleótido desoxi, MOE y (S)-cEt. ISIS 594430 es un gápmero 3-10-3 (S)-cEt.

Se prepararon células a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,01  $\mu$ M, 0,04  $\mu$ M, 0,12  $\mu$ M, 0,37  $\mu$ M, 1,11  $\mu$ M, 3,33  $\mu$ M y 10,00  $\mu$ M, como se especifica en la tabla a continuación. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de CFB por PCR ultrarrápida cuantitativa. Se usó el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459 para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de CFB se ajustaron de acuerdo con el contenido de ARN total, como se mide por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora semimáxima (CI<sub>50</sub>) de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de CFB se redujeron de manera dependiente de la dosis en las células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

**Tabla 160**

N.º ISIS	0,01 $\mu$ M	0,04 $\mu$ M	0,12 $\mu$ M	0,37 $\mu$ M	1,11 $\mu$ M	3,33 $\mu$ M	10,00 $\mu$ M	CI <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
588536	0	0	0	5	45	73	94	1,4
588548	0	0	0	19	52	78	90	1,2
588553	0	0	9	42	76	85	94	0,6
588555	0	52	23	58	78	83	95	0,3
588847	4	1	18	45	67	84	96	0,5
588848	0	3	13	38	67	83	95	0,6
594430	0	0	10	34	50	55	84	1,4

#### Ejemplo 126: tolerabilidad de gápmers MOE dirigidos a CFB humano en ratones CD1

Los ratones CD1® (Charles River, MA) son un modelo de ratón polivalente, utilizado con frecuencia para pruebas de seguridad y eficacia. Los ratones se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de estudios descritos anteriormente y se evaluaron para determinar cambios en los niveles de diversos marcadores de química plasmática.

#### Estudio 1 (con gápmers 5-10-5 MOE)

A grupos de ratones CD1 macho de siete semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótido ISIS. A un grupo de ratones CD1 macho se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. A un grupo de ratones se le inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótido de control ISIS 141923 (CCTTCCCTGAAGGTTCTCC, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 809, gápmero 5-10-5 MOE sin diana murina conocida). Se sacrificaron los ratones 48 horas después de la última dosis y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

#### Marcadores de química plasmática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas y BUN usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 161**

Marcadores de química plasmática en plasma de ratones CD1 el día 40

	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	BUN (mg/dl)
PBS	25	46	20
ISIS 532614	513	407	22
ISIS 532692	131	130	24
ISIS 532770	36	53	25
ISIS 532775	193	158	23
ISIS 532800	127	110	25
ISIS 532809	36	42	22
ISIS 532810	229	286	26
ISIS 532811	197	183	21
ISIS 532917	207	204	27
ISIS 532952	246	207	25
ISIS 141923	39	67	23

5

**Pesos**

Los pesos corporales de los ratones se midieron el día 40 antes de sacrificar a los ratones. También se midieron los pesos de órganos, hígado, riñón y bazo después de que se sacrificaran los ratones. Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

10

**Tabla 162**

15 Pesos (g) de ratones CD1 el día 40

	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	44	0,8	2,0	0,1
ISIS 532614	43	0,7	4,3	0,2
ISIS 532692	42	0,7	2,6	0,2
ISIS 532770	42	0,6	2,3	0,2
ISIS 532775	42	0,7	2,5	0,2
ISIS 532800	43	0,6	2,8	0,3
ISIS 532809	42	0,6	2,2	0,1
ISIS 532810	43	0,6	2,3	0,2
ISIS 532811	41	0,7	2,4	0,2
ISIS 532917	42	0,7	3,0	0,2
ISIS 532952	44	0,8	2,5	0,3
ISIS 141923	41	0,6	2,0	0,1

**Estudio 2 (con gámperos 5-10-5 MOE)**

20 A grupos de ratones GD1 macho de seis a ocho semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótido ISIS. A dos grupos de ratones GD1 macho se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. A un grupo de ratones se le inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótido de control ISIS 141923. Se sacrificaron los ratones 48 horas después de la última dosis y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

25

**Marcadores de química plasmática**

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas, albúmina y BUN usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 163**

Marcadores de química plasmática en plasma de ratones CD1 el día 45

	ALT (U/l)	AST (U/l)	Albúmina (g/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	39	53	2,9	29
PBS	50	97	2,9	30
ISIS 141923	163	174	4,1	25
ISIS 532810	321	297	2,5	26
ISIS 532952	182	199	2,7	27
ISIS 588534	276	248	2,6	29
ISIS 588536	48	60	2,9	31
ISIS 588537	72	79	4,0	25
ISIS 588538	63	67	4,5	29
ISIS 588539	238	177	3,9	28
ISIS 588545	496	256	4,4	24
ISIS 588547	323	210	4,4	25
ISIS 588548	61	63	4,2	27
ISIS 588549	127	132	4,1	23
ISIS 588551	302	282	4,2	22
ISIS 588552	76	98	4,0	30
ISIS 588558	1066	521	3,9	27
ISIS 588559	76	94	4,1	26
ISIS 588561	502	500	4,4	26
ISIS 588563	50	99	4,4	28

**Pesos**

Los pesos corporales de los ratones se midieron el día 42. También se midieron los pesos de órganos, hígado, riñón y bazo después de que se sacrificaran los ratones el día 45. Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 164**

Pesos (g) de ratones CD1 el día 40

	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	44	0,7	2,4	0,1
PBS	43	0,7	2,4	0,2
ISIS 141923	43	0,6	2,4	0,2
ISIS 532810	41	0,6	1,9	0,1

	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
ISIS 532952	43	0,6	2,4	0,2
ISIS 588534	44	0,7	2,8	0,2
ISIS 588536	43	0,7	2,7	0,2
ISIS 588537	43	0,7	2,4	0,2
ISIS 588538	44	0,7	2,8	0,2
ISIS 588539	44	0,6	2,7	0,2
ISIS 588545	44	0,8	3,3	0,3
ISIS 588547	42	0,6	3,3	0,3
ISIS 588548	43	0,6	2,8	0,2
ISIS 588549	42	0,6	2,8	0,3
ISIS 588551	39	0,6	2,2	0,2
ISIS 588552	41	0,6	2,2	0,2
ISIS 588558	44	0,7	3,3	0,3
ISIS 588559	43	0,6	2,7	0,3
ISIS 588561	40	0,7	2,4	0,3
ISIS 588563	41	0,7	2,4	0,2

### Estudio 3 (con gámperos 5-10-5 MOE)

A grupos de ratones CD1 macho de seis a ocho semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótido ISIS. A dos grupos de ratones CD1 macho se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Se sacrificaron los ratones 48 horas después de la última dosis y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

### Marcadores de química plasmática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas, albúmina y BUN usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 165**

Marcadores de química plasmática en plasma de ratones CD1 el día 42

	ALT (U/l)	AST (U/l)	Albúmina (g/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	37	108	3,1	30
PBS	45	51	3,0	27
ISIS 588544	209	168	2,9	26
ISIS 588546	526	279	3,0	22
ISIS 588550	82	136	2,7	25
ISIS 588553	79	105	3,0	24
ISIS 588554	112	220	3,2	19
ISIS 588555	95	162	2,8	25
ISIS 588556	345	236	3,0	26
ISIS 588557	393	420	2,8	24
ISIS 588560	109	148	2,7	27

ISIS 588562	279	284	2,8	22
ISIS 588564	152	188	3,0	23
ISIS 588565	247	271	2,8	28

### Pesos

Los pesos corporales de los ratones se midieron el día 42. También se midieron los pesos de órganos, hígado, riñón y bazo después de que se sacrificaran los ratones el día 42. Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 166**

Pesos (g) de ratones CD1 el día 40

	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	42	0,7	2,4	0,1
PBS	41	0,7	2,4	0,2
ISIS 588544	44	0,6	1,9	0,1
ISIS 588546	43	0,6	2,4	0,2
ISIS 588550	41	0,7	2,8	0,2
ISIS 588553	44	0,7	2,7	0,2
ISIS 588554	40	0,7	2,4	0,2
ISIS 588555	44	0,7	2,8	0,2
ISIS 588556	39	0,6	2,7	0,2
ISIS 588557	41	0,8	3,3	0,3
ISIS 588560	38	0,6	3,2	0,3
ISIS 588562	41	0,6	2,8	0,2
ISIS 588564	40	0,6	2,8	0,3
ISIS 588565	39	0,6	2,2	0,2

### Estudio 4 (con gámperos (S)-cEt y oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)

A grupos de ratones CD1 macho de diez semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótido ISIS de los estudios descritos anteriormente. Además, dos oligonucleótidos, ISIS 594431 e ISIS 594432, se diseñaron como gámperos 3-10-3 (S)-cEt y también se sometieron a prueba en este estudio. ISIS 594431 (ACCTCCTTCCGAGTCA, SEQ ID NO: 550) se dirige a la misma región que ISIS 588871, un gámpero desoxi, MOE y (S)-cEt (sitio de inicio diana 2197 de SEQ ID NO: 1 y sitio de inicio diana 6985 de SEQ ID NO: 2). ISIS 594432 (TGGTCACATTCCCTTC, SEQ ID NO: 542) se dirige a la misma región que ISIS 588872, un gámpero desoxi, MOE y (S)-cEt (sitio de inicio diana 154 de SEQ ID NO: 1 y sitio de inicio diana 1875 de SEQ ID NO: 2).

A dos grupos de ratones CD1 macho se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Se sacrificaron los ratones 48 horas después de la última dosis y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

### Marcadores de química plasmática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas, albúmina, creatinina y BUN usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 167**

Marcadores de química plasmática en plasma de ratones CD1 el día 42

	Química	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	-	71	77	2,7	0,2	29
PBS	-	30	36	2,7	0,2	26
ISIS 588834	Desoxi, MOE y (S)-cEt	436	510	2,8	0,2	25
ISIS 588835	Desoxi, MOE y (S)-cEt	70	98	3,0	0,2	27
ISIS 588836	Desoxi, MOE y (S)-cEt	442	312	2,7	0,2	27
ISIS 588846	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	75	2,5	0,1	28
ISIS 588847	Desoxi, MOE y (S)-cEt	44	71	2,6	0,1	24
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	47	70	2,4	0,1	27
ISIS 588857	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1287	655	2,7	0,2	26
ISIS 588858	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1169	676	2,5	0,2	26
ISIS 588859	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1036	1300	3,2	0,2	25
ISIS 588861	Desoxi, MOE y (S)-cEt	749	466	3,1	0,1	24
ISIS 588862	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1564	1283	2,9	0,2	22
ISIS 588863	Desoxi, MOE y (S)-cEt	477	362	2,8	0,1	23
ISIS 588864	Desoxi, MOE y (S)-cEt	118	165	2,9	0,2	27
ISIS 588866	Desoxi, MOE y (S)-cEt	843	784	3,2	0,2	25
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	89	99	2,4	0,1	28
ISIS 594431	3-10-3 (S)-cEt	590	433	3,0	0,2	24
ISIS 594432	3-10-3 (S)-cEt	2595	2865	2,4	0,1	25

5

**Pesos**

Los pesos corporales de los ratones se midieron el día 39. También se midieron los pesos de órganos, hígado, riñón y bazo después de que se sacrificaran los ratones el día 42. Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

10

**Tabla 168**

15 Pesos (g) de ratones CD1

	Química	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	-	37	0,6	2,1	0,1
PBS	-	45	0,7	2,5	0,2
ISIS 588834	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	0,6	3,2	0,2
ISIS 588835	Desoxi, MOE y (S)-cEt	38	0,7	2,8	0,3
ISIS 588836	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0,7	2,3	0,2
ISIS 588837	Desoxi, MOE y (S)-cEt	38	0,6	2,4	0,3
ISIS 588846	Desoxi, MOE y (S)-cEt	39	0,6	2,3	0,2
ISIS 588847	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	0,7	2,5	0,2
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	43	0,7	2,6	0,3
ISIS 588857	Desoxi, MOE y (S)-cEt	39	0,6	3,3	0,2
ISIS 588858	Desoxi, MOE y (S)-cEt	37	0,6	3,4	0,2

	Química	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
ISIS 588859	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0,7	2,5	0,3
ISIS 588861	Desoxi, MOE y (S)-cEt	39	0,6	2,6	0,4
ISIS 588862	Desoxi, MOE y (S)-cEt	34	0,6	2,5	0,4
ISIS 588863	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	0,6	2,7	0,3
ISIS 588864	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	0,7	2,3	0,2
ISIS 588866	Desoxi, MOE y (S)-cEt	45	0,7	3,0	0,2
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	39	0,6	2,2	0,2
ISIS 594431	3-10-3 (S)-cEt	36	0,6	3,2	0,2
ISIS 594432	3-10-3 (S)-cEt	31	0,4	1,9	0,1

#### Estudio 5 (con gámpmeros MOE, gámpmeros (S)-cEt y oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a nueve semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótido ISIS. A dos grupos de ratones CD1 macho se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Se sacrificaron los ratones 48 horas después de la última dosis y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

#### Marcadores de química plasmática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas, albúmina, creatinina y BUN usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 169**

Marcadores de química plasmática en plasma de ratones CD1 el día 42

	Química	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	-	33	84	2,9	0,2	28
PBS	-	32	65	2,5	0,1	27
ISIS 532692	5-10-5 MOE	363	281	3,0	0,2	30
ISIS 532770	5-10-5 MOE	69	100	2,9	0,1	28
ISIS 532775	5-10-5 MOE	371	333	2,6	0,1	29
ISIS 532800	5-10-5 MOE	104	106	2,7	0,1	31
ISIS 532809	5-10-5 MOE	69	127	2,8	0,1	26
ISIS 588540	5-10-5 MOE	66	110	2,8	0,1	26
ISIS 588838	3-10-3 (S)-cEt	391	330	2,9	0,1	25
ISIS 588842	Desoxi, MOE y (S)-cEt	224	264	2,6	0,1	26
ISIS 588843	3-10-3 (S)-cEt	185	160	2,8	0,1	24
ISIS 588844	Desoxi, MOE y (S)-cEt	304	204	2,7	0,1	25
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	186	123	2,7	0,1	31
ISIS 588854	Desoxi, MOE y (S)-cEt	1232	925	2,7	0,1	25
ISIS 588855	Desoxi, MOE y (S)-cEt	425	321	2,7	0,1	28
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	78	101	2,4	0,1	31
ISIS 588865	Desoxi, MOE y (S)-cEt	126	145	2,5	0,1	23
ISIS 588867	Desoxi, MOE y (S)-cEt	108	112	2,5	0,1	32



	Química	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
ISIS 588868	Desoxi, MOE y (S)-cEt	61	124	2,5	0,1	28
ISIS 588870	Desoxi, MOE y (S)-cEt	48	69	2,4	0,1	31
ISIS 588871	Desoxi, MOE y (S)-cEt	723	881	2,5	0,1	24
ISIS 588872	Desoxi, MOE y (S)-cEt	649	654	2,7	0,1	26

### Pesos

Los pesos corporales de los ratones se midieron el día 40. También se midieron los pesos de órganos, hígado, riñón y bazo después de que se sacrificaran los ratones el día 42. Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 170**

Pesos (g) de ratones CD1

	Química	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	-	46	0,7	2,3	0,2
PBS	-	44	0,7	2,3	0,2
ISIS 532692	5-10-5 MOE	44	0,6	2,8	0,2
ISIS 532770	5-10-5 MOE	43	0,6	2,2	0,2
ISIS 532775	5-10-5 MOE	43	0,6	2,8	0,2
ISIS 532800	5-10-5 MOE	47	0,7	2,9	0,2
ISIS 532809	5-10-5 MOE	44	0,7	2,6	0,2
ISIS 588540	5-10-5 MOE	44	0,7	2,5	0,2
ISIS 588838	3-10-3 (S)-cEt	45	0,7	3,1	0,2
ISIS 588842	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0,6	2,6	0,2
ISIS 588843	3-10-3 (S)-cEt	43	0,7	2,9	0,2
ISIS 588844	Desoxi, MOE y (S)-cEt	43	0,7	2,8	0,2
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	46	0,6	2,6	0,2
ISIS 588854	Desoxi, MOE y (S)-cEt	45	0,7	4,1	0,2
ISIS 588855	Desoxi, MOE y (S)-cEt	44	0,7	2,9	0,3
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	44	0,7	3,2	0,2
ISIS 588865	Desoxi, MOE y (S)-cEt	45	0,7	2,6	0,3
ISIS 588867	Desoxi, MOE y (S)-cEt	46	0,7	3,2	0,3
ISIS 588868	Desoxi, MOE y (S)-cEt	42	0,7	2,9	0,3
ISIS 588870	Desoxi, MOE y (S)-cEt	43	0,6	2,2	0,2
ISIS 588871	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0,7	3,1	0,2
ISIS 588872	Desoxi, MOE y (S)-cEt	39	0,6	3,2	0,3

### Estudio 6 (con oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a nueve semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt. A dos grupos de ratones CD1 macho se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Se sacrificaron los ratones 48 horas después de la última dosis y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

### Marcadores de química plasmática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles

plasmáticos de transaminasas, albúmina, creatinina, bilirrubina y BUN usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

5

**Tabla 171**

Marcadores de química plasmática en plasma de ratones CD1 el día 45

	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	Bilirrubina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	39	78	3,4	0,2	0,2	31
PBS	37	59	2,9	0,1	0,2	27
ISIS 599552	167	208	3,0	0,1	0,2	32
ISIS 599553	43	86	2,9	0,1	0,2	28
ISIS 599554	57	101	2,2	0,2	0,2	31
ISIS 599569	469	530	3,5	0,2	0,3	27
ISIS 599577	37	84	2,9	0,1	0,1	31
ISIS 599578	45	104	2,8	0,1	0,2	30
ISIS 599581	54	88	3,1	0,1	0,2	31
ISIS 599590	1741	1466	3,1	0,1	0,3	25
ISIS 599591	2230	1183	3,2	0,1	0,3	27
ISIS 601209	68	104	2,9	0,1	0,2	30
ISIS 601212	1795	968	3,2	0,1	0,3	22
ISIS 601215	424	385	3,1	0,1	0,4	25
ISIS 601216	90	125	2,9	0,1	0,2	29
ISIS 601276	946	366	2,9	0,1	0,5	31
ISIS 601282	831	540	3,3	0,2	0,2	32

10

**Pesos**

Los pesos corporales de los ratones se midieron el día 40. También se midieron los pesos de órganos, hígado, riñón y bazo después de que se sacrificaran los ratones el día 45. Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

15

**Tabla 172**

20 Pesos (g) de ratones CD1

	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	40	0,7	2,1	0,2
PBS	42	0,8	2,3	0,2
ISIS 599552	38	0,6	2,3	0,2
ISIS 599553	39	0,7	2,2	0,2
ISIS 599554	39	0,7	2,4	0,2
ISIS 599569	39	0,7	2,2	0,2
ISIS 599577	41	0,7	2,5	0,2
ISIS 599578	37	0,6	2,0	0,2
ISIS 599581	40	0,6	2,5	0,2
ISIS 599590	34	0,6	3,5	0,2

	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
ISIS 599591	38	0,8	2,7	0,2
ISIS 601209	42	0,7	2,6	0,3
ISIS 601212	38	0,6	2,9	0,2
ISIS 601215	36	0,7	2,6	0,2
ISIS 601216	42	0,6	2,7	0,2
ISIS 601276	42	0,7	3,2	0,2
ISIS 601282	38	0,7	3,2	0,2

#### Estudio 7 (con gámperos MOE y oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a nueve semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótidos ISIS. A un grupo de ratones CD1 macho se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Se sacrificaron los ratones 48 horas después de la última dosis y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

#### Marcadores de química plasmática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas, albúmina, creatinina y BUN usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 173**

Marcadores de química plasmática en plasma de ratones CD1 el día 45

	Química	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	-	120	102	2,7	0,2	26
ISIS 588842	Desoxi, MOE y (S)-cEt	177	164	2,7	0,1	23
ISIS 588843	Desoxi, MOE y (S)-cEt	98	194	2,7	0,1	24
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	91	142	2,6	0,1	23
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	78	110	2,7	0,1	23
ISIS 599024	3-10-4 MOE	91	108	2,7	0,1	23
ISIS 599087	5-7-5 MOE	198	183	2,6	0,2	28
ISIS 599093	5-7-5 MOE	3285	2518	2,6	0,2	24
ISIS 599149	4-8-5 MOE	30	64	2,9	0,2	25
ISIS 599155	4-8-5 MOE	145	189	2,6	0,2	25
ISIS 599202	5-8-5 MOE	150	128	2,8	0,2	23
ISIS 599203	5-8-5 MOE	111	127	2,8	0,2	24
ISIS 599208	5-8-5 MOE	146	178	2,9	0,2	22
ISIS 599261	3-10-5 MOE	144	165	2,8	0,2	26
ISIS 599267	3-10-5 MOE	96	132	2,6	0,2	27
ISIS 599268	3-10-5 MOE	87	115	2,6	0,1	23
ISIS 599322	6-7-6 MOE	115	138	2,7	0,1	22
ISIS 599374	5-9-5 MOE	375	271	2,6	0,1	21
ISIS 599378	5-9-5 MOE	77	99	2,7	0,1	23
ISIS 599441	6-8-6 MOE	150	250	2,9	0,1	23

**Pesos**

Los pesos corporales de los ratones se midieron el día 44. También se midieron los pesos de órganos, hígado, riñón y bazo después de que se sacrificaran los ratones el día 49. Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los pesos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 174**

Pesos (g) de ratones CD1

	Química	Cuerpo	Riñón	Hígado	Bazo
PBS	-	39	0,6	1,9	0,1
ISIS 588842	Desoxi, MOE y (S)-cEt	38	0,5	2,1	0,1
ISIS 588843	Desoxi, MOE y (S)-cEt	41	0,6	2,4	0,2
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	42	0,6	2,2	0,2
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	42	0,7	2,6	0,2
ISIS 599024	3-10-4 MOE	41	0,6	4,0	0,2
ISIS 599087	5-7-5 MOE	44	0,8	2,6	0,3
ISIS 599093	5-7-5 MOE	39	0,6	2,3	0,2
ISIS 599149	4-8-5 MOE	42	0,7	2,8	0,2
ISIS 599155	4-8-5 MOE	41	0,7	2,1	0,2
ISIS 599202	5-8-5 MOE	43	0,6	2,6	0,2
ISIS 599203	5-8-5 MOE	42	0,6	2,6	0,2
ISIS 599208	5-8-5 MOE	40	0,6	2,1	0,2
ISIS 599261	3-10-5 MOE	39	0,7	3,4	0,3
ISIS 599267	3-10-5 MOE	42	0,8	2,5	0,3
ISIS 599268	3-10-5 MOE	41	0,7	2,1	0,2
ISIS 599322	6-7-6 MOE	43	0,6	2,2	0,2
ISIS 599374	5-9-5 MOE	37	0,6	2,2	0,2
ISIS 599378	5-9-5 MOE	43	0,7	2,7	0,2
ISIS 599441	6-8-6 MOE	42	0,6	2,5	0,3

**Estudio 8 (con gápmers MOE, oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt y gápmers (S)-cEt)**

A grupos de ratones macho CD1 de ocho a nueve semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de gápmers MOE, o 50 mg/kg de oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt o gápmers (S)-cEt. A un grupo de ratones CD1 macho se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Se sacrificaron los ratones 48 horas después de la última dosis y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

**Marcadores de química plasmática**

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas, albúmina, creatinina y BUN usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación.

**Tabla 175**

Marcadores de química plasmática en plasma de ratones CD1 el día 43

	Química	Dosis (mg/kg/semana)	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	-	-	37	57	2,5	0,08	26
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	57	73	2,5	0,07	24
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	74	126	2,8	0,10	26
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	83	73	2,5	0,07	23
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	106	102	2,7	0,09	27
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	66	62	2,6	0,10	24
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	48	67	2,6	0,08	23
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	65	106	2,5	0,10	25
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	78	90	2,6	0,09	25
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	94	89	2,5	0,08	23
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	38	54	2,3	0,07	25
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	63	72	2,5	0,10	27

5

**Pesos**

Los pesos corporales de los ratones se midieron el día 36. También se midieron los pesos de órganos, hígado, riñón y bazo después de que se sacrificaran los ratones el día 43. Los resultados de los pesos de órganos se expresaron como una proporción con respecto a los pesos corporales y se normalizaron a la proporción de control de PBS.

10

**Tabla 176**

Pesos de órganos/peso corporal (PC) de ratones CD1

15

	Química	Dosis (mg/kg/semana)	Riñón/PC	Hígado/PC	Bazo/PC
PBS	-	-	1,0	1,0	1,0
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	1,4	1,1	1,0
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	1,5	1,1	0,9
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	1,3	1,2	0,9
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	1,3	1,2	1,0
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	1,6	1,1	1,0
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	1,7	1,2	1,0
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	1,5	1,2	1,0
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	1,5	1,0	0,8
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	1,8	1,2	1,0
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	1,3	1,0	0,9
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	1,4	1,1	0,9

**Ensayos de citocinas**

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para las mediciones de los diversos niveles de citocinas, tales como IL-6, MDC, MIP1 $\beta$ , IP-10, MCP1, MIP-1 $\alpha$  y RANTES. Los resultados se presentan en la tabla 54.

**Tabla 177**

Niveles de citocinas (pg/ml) en plasma de ratones CD1

	Química	IL-6	MDC	MIP1 $\beta$	IP-10	MCP1	MIP-1 $\alpha$	RANTES
PBS	-	70	16	23	20	17	6	2
ISIS 532770	5-10-5 MOE	101	18	146	116	101	24	6
ISIS 532800	5-10-5 MOE	78	17	83	53	105	1	3
ISIS 532809	5-10-5 MOE	66	19	60	32	55	20	4
ISIS 588540	5-10-5 MOE	51	18	126	70	75	4	3
ISIS 588544	5-10-5 MOE	157	14	94	34	102	1	3
ISIS 588548	5-10-5 MOE	164	12	90	66	84	10	4
ISIS 588550	5-10-5 MOE	58	21	222	124	157	3	5
ISIS 588553	5-10-5 MOE	62	14	183	60	103	9	4
ISIS 588555	5-10-5 MOE	70	19	172	171	178	16	9
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	59	13	61	27	63	12	4
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	48	14	56	38	85	10	3

**Ensayos de hematología**

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para las mediciones de hematocrito (HCT), así como de las diversas células sanguíneas, tales como WBC, RBC y plaquetas, y el contenido de hemoglobina (Hb) total. Los resultados se presentan en la tabla 55.

**Tabla 178**

Marcadores de hematología en plasma de ratones CD1

	Química	HCT (%)	Hb (g/dl)	WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	RBC ( $10^6/\mu\text{l}$ )	Plaquetas ( $10^3/\mu\text{l}$ )
PBS	-	46	15	7	9	960
ISIS 532770	5-10-5 MOE	45	14	5	9	879
ISIS 532800	5-10-5 MOE	45	14	5	9	690
ISIS 532809	5-10-5 MOE	46	14	6	9	1005
ISIS 588540	5-10-5 MOE	49	15	6	10	790
ISIS 588544	5-10-5 MOE	36	11	7	7	899
ISIS 588548	5-10-5 MOE	46	14	6	9	883
ISIS 588550	5-10-5 MOE	42	13	8	8	721
ISIS 588553	5-10-5 MOE	45	14	6	9	719
ISIS 588555	5-10-5 MOE	43	13	8	9	838
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	40	15	8	10	840
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	45	14	8	9	993

**Ejemplo 127: tolerabilidad de oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB humano en ratas Sprague-Dawley**

- 5 Las ratas Sprague-Dawley son un modelo polivalente usado para evaluaciones de seguridad y eficacia. Las ratas se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS de los estudios descritos en los ejemplos anteriores y se evaluaron para determinar cambios en los niveles de diversos marcadores de química plasmática.

**Estudio 1 (con gámpmeros 5-10-5 MOE)**

- 10 Las ratas Sprague-Dawley macho, de siete a ocho semanas de edad, se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron a voluntad con comida normal para ratas Purina, dieta 5001. A grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se les inyectaron a cada uno por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de gámpmeros 5-10-5 MOE. A un grupo de control de 6 ratas se le inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

**Función hepática**

- 20 Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles plasmáticos de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla a continuación expresados en UI/l. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 179**

Marcadores de función hepática en ratas Sprague-Dawley

30

	ALT (UI/l)	AST (UI/l)
PBS	66	134
ISIS 588544	101	329
ISIS 588550	69	157
ISIS 588553	88	304
ISIS 588554	202	243
ISIS 588555	94	113
ISIS 588556	102	117
ISIS 588560	206	317
ISIS 588564	292	594

**Función renal**

- 35 Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles plasmáticos de nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) y creatinina usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación, expresados en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 180**

Marcadores de función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley

	BUN	Creatinina
PBS	18	3,5
ISIS 588544	21	3,1
ISIS 588550	21	3,0

	BUN	Creatinina
ISIS 588553	22	2,8
ISIS 588554	23	3,0
ISIS 588555	22	3,5
ISIS 588556	21	3,2
ISIS 588560	26	2,4
ISIS 588564	24	2,7

### Pesos

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Se midieron los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cualquier cambio en los pesos de órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de otros estudios.

**Tabla 181**

Pesos (g)

	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	422	16	1,2	3,9
ISIS 588544	353	15	1,7	2,9
ISIS 588550	321	14	2,1	3,2
ISIS 588553	313	15	2,3	3,2
ISIS 588554	265	11	1,6	2,7
ISIS 588555	345	14	1,4	3,3
ISIS 588556	328	13	1,7	3,1
ISIS 588560	270	13	2,4	3,0
ISIS 588564	253	12	2,9	3,0

### Estudio 2 (con oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)

Las ratas Sprague-Dawley macho, de nueve a diez semanas de edad, se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron a voluntad con comida normal para ratas Purina, dieta 5001. A grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se les inyectaron a cada uno por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt. A dos grupos de control de 3 ratas se les inyectó a cada uno por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

### Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas el día 42 usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles plasmáticos de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y albúmina y los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.



**Tabla 182**

Marcadores de función hepática en ratas Sprague-Dawley

	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	55	150	3,4
PBS	64	91	3,5
ISIS 588554	52	92	3,2
ISIS 588835	971	844	4,1
ISIS 588842	317	359	3,8
ISIS 588843	327	753	2,9
ISIS 588846	70	111	3,2
ISIS 588847	65	100	3,0
ISIS 588864	91	109	3,0
ISIS 594430	85	106	3,7

5

**Función renal**

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles plasmáticos de nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) y creatinina usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación, expresados en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

10

**Tabla 183**

Marcadores de función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley

	BUN	Creatinina
PBS	17	0,4
PBS	21	0,4
ISIS 588554	20	0,4
ISIS 588835	23	0,5
ISIS 588842	22	0,4
ISIS 588843	51	0,4
ISIS 588846	25	0,5
ISIS 588847	23	0,5
ISIS 588864	23	0,4
ISIS 594430	22	0,5

15

**Pesos**

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Se midieron los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cualquier cambio en los pesos de órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de otros estudios.

20

25

**Tabla 184**

Pesos (g)

	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	466	16	0,9	3,8
PBS	485	16	0,9	3,6
ISIS 588554	393	15	2,3	2,6
ISIS 588835	387	16	1,0	3,3
ISIS 588842	414	22	1,5	3,7
ISIS 588843	427	20	2,5	4,2
ISIS 588846	366	16	2,1	3,3
ISIS 588847	402	15	1,6	3,1
ISIS 588864	364	15	2,1	3,8
ISIS 594430	420	16	1,2	3,6

5

**Estudio 3 (con gámperos MOE)**

Las ratas Sprague-Dawley macho, de nueve a diez semanas de edad, se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron a voluntad con comida normal para ratas Purina, dieta 5001. A grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se les inyectaron a cada uno por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de gámperos MOE. A un grupo de control de 6 ratas se le inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

10

**Función hepática**

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas el día 43 usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles plasmáticos de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla a continuación expresados en UI/l. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

20

**Tabla 185**

Marcadores de función hepática en ratas Sprague-Dawley

25

	Química	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	-	52	110	3,7
ISIS 588563	5-10-5 MOE	175	291	2,9
ISIS 599024	3-10-4 MOE	139	173	1,4
ISIS 599093	5-7-5 MOE	116	238	2,6
ISIS 599149	4-8-5 MOE	232	190	3,4
ISIS 599155	4-8-5 MOE	108	215	2,5
ISIS 599202	5-8-5 MOE	65	86	3,5
ISIS 599203	5-8-5 MOE	71	97	3,1
ISIS 599208	5-8-5 MOE	257	467	1,9
ISIS 599261	3-10-5 MOE	387	475	1,5
ISIS 599267	3-10-5 MOE	201	337	2,7

30

**Función renal**

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles plasmáticos de nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) y creatinina usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación, expresados en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 186**

Marcadores de función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley

	Química	BUN	Creatinina
PBS	-	16	0,3
ISIS 588563	5-10-5 MOE	26	0,4
ISIS 599024	3-10-4 MOE	135	1,2
ISIS 599093	5-7-5 MOE	29	0,4
ISIS 599149	4-8-5 MOE	23	0,4
ISIS 599155	4-8-5 MOE	29	0,4
ISIS 599202	5-8-5 MOE	19	0,4
ISIS 599203	5-8-5 MOE	22	0,4
ISIS 599208	5-8-5 MOE	26	0,3
ISIS 599261	3-10-5 MOE	228	1,6
ISIS 599267	3-10-5 MOE	24	0,4

**Pesos**

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Se midieron los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cualquier cambio en los pesos de órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de otros estudios.

**Tabla 187**

Pesos (g)

	Química	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	-	471	16	1,0	4,1
ISIS 588563	5-10-5 MOE	311	16	3,4	4,1
ISIS 599024	3-10-4 MOE	297	11	1,0	3,5
ISIS 599093	5-7-5 MOE	332	18	4,1	5,0
ISIS 599149	4-8-5 MOE	388	16	2,3	3,7
ISIS 599155	4-8-5 MOE	290	15	2,9	4,5
ISIS 599202	5-8-5 MOE	359	13	1,3	3,2
ISIS 599203	5-8-5 MOE	334	14	1,8	3,3
ISIS 599208	5-8-5 MOE	353	29	4,7	4,6
ISIS 599261	3-10-5 MOE	277	10	0,9	3,2
ISIS 599267	3-10-5 MOE	344	21	3,9	4,7

**Estudio 4 (con gámperos MOE)**

Las ratas Sprague-Dawley macho, de nueve a diez semanas de edad, se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron a voluntad con comida normal para ratas Purina, dieta 5001. A grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se les inyectaron a cada uno por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de gámperos MOE. A un grupo de control de 6 ratas se le inyectó por vía subcutánea una vez a la

semana durante 6 semanas PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

### Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas el día 42 usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles plasmáticos de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla a continuación expresados en UI/l. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 188**

Marcadores de función hepática en ratas Sprague-Dawley

	Química	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	-	48	77	3,9
ISIS 532800	5-10-5 MOE	72	111	3,4
ISIS 532809	5-10-5 MOE	59	89	3,8
ISIS 588540	5-10-5 MOE	146	259	3,8
ISIS 599268	3-10-5 MOE	175	206	2,7
ISIS 599322	6-7-6 MOE	523	567	3,3
ISIS 599374	5-9-5 MOE	114	176	3,0
ISIS 599378	5-9-5 MOE	124	116	3,2
ISIS 599380	5-9-5 MOE	148	210	3,4
ISIS 599441	6-8-6 MOE	51	91	2,6

### Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles plasmáticos de nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) y creatinina usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación, expresados en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 189**

Marcadores de función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley

	Química	BUN	Creatinina
PBS	-	15	0,4
ISIS 532800	5-10-5 MOE	26	0,5
ISIS 532809	5-10-5 MOE	18	0,5
ISIS 588540	5-10-5 MOE	22	0,5
ISIS 599268	3-10-5 MOE	28	0,5
ISIS 599322	6-7-6 MOE	24	0,5
ISIS 599374	5-9-5 MOE	29	0,5
ISIS 599378	5-9-5 MOE	22	0,4
ISIS 599380	5-9-5 MOE	26	0,5
ISIS 599441	6-8-6 MOE	24	0,4

**Pesos**

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Se midieron los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cualquier cambio en los pesos de órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de otros estudios.

**Tabla 190**

Pesos (g)

	Química	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	-	502	16	0,9	3,7
ISIS 532800	5-10-5 MOE	376	16	2,0	3,4
ISIS 532809	5-10-5 MOE	430	16	1,4	3,4
ISIS 588540	5-10-5 MOE	391	16	1,8	3,5
ISIS 599268	3-10-5 MOE	332	16	3,6	3,6
ISIS 599322	6-7-6 MOE	348	13	2,1	3,4
ISIS 599374	5-9-5 MOE	302	12	2,0	3,3
ISIS 599378	5-9-5 MOE	332	11	1,1	2,8
ISIS 599380	5-9-5 MOE	350	11	1,5	3,3
ISIS 599441	6-8-6 MOE	368	16	2,5	3,3

**Estudio 5 (con gámperos MOE y oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt)**

Las ratas Sprague-Dawley macho, de nueve a diez semanas de edad, se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron a voluntad con comida normal para ratas Purina, dieta 5001. A grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se les inyectaron a cada uno por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de gámpero MOE o 50 mg/kg de oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt. A un grupo de control de 4 ratas se le inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

**Función hepática**

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas el día 42 usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles plasmáticos de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla a continuación expresados en UI/l. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 191**

Marcadores de función hepática en ratas Sprague-Dawley

	Química	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	-	49	74	3,3
ISIS 532770	5-10-5 MOE	95	132	3,3
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	47	72	3,1
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	56	75	3,0
ISIS 588865	Desoxi, MOE y (S)-cEt	62	84	2,9
ISIS 588867	Desoxi, MOE y (S)-cEt	73	214	2,9
ISIS 588868	Desoxi, MOE y (S)-cEt	59	83	3,1
ISIS 588870	Desoxi, MOE y (S)-cEt	144	144	3,4

**Función renal**

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles plasmáticos y ureicos de nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) y creatinina usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en las tablas a continuación, expresados en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 192**

Marcadores de función renal (mg/dl) en el plasma de ratas Sprague-Dawley

	Química	BUN	Creatinina
PBS	-	18	0,3
ISIS 532770	5-10-5 MOE	20	0,4
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	20	0,4
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	22	0,4
ISIS 588865	Desoxi, MOE y (S)-cEt	24	0,5
ISIS 588867	Desoxi, MOE y (S)-cEt	22	0,4
ISIS 588868	Desoxi, MOE y (S)-cEt	19	0,4
ISIS 588870	Desoxi, MOE y (S)-cEt	20	0,5

**Tabla 193**

Marcadores de función renal (mg/dl) en la orina de ratas Sprague-Dawley

	Química	Proteína total	Creatinina
PBS	-	80	92
ISIS 532770	5-10-5 MOE	466	69
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	273	64
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	259	68
ISIS 588865	Desoxi, MOE y (S)-cEt	277	67
ISIS 588867	Desoxi, MOE y (S)-cEt	337	68
ISIS 588868	Desoxi, MOE y (S)-cEt	326	75
ISIS 588870	Desoxi, MOE y (S)-cEt	388	82

**Pesos**

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Se midieron los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cualquier cambio en los pesos de órganos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron de otros estudios.

**Tabla 194**

Pesos (g)

	Química	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	-	489	16	0,9	3,5
ISIS 532770	5-10-5 MOE	372	15	1,7	3,1
ISIS 588851	Desoxi, MOE y (S)-cEt	285	14	1,4	3,2

	Química	Cuerpo	Hígado	Bazo	Riñón
ISIS 588856	Desoxi, MOE y (S)-cEt	415	15	1,1	3,3
ISIS 588865	Desoxi, MOE y (S)-cEt	362	14	2,0	3,3
ISIS 588867	Desoxi, MOE y (S)-cEt	406	15	2,4	3,4
ISIS 588868	Desoxi, MOE y (S)-cEt	399	15	1,5	3,4
ISIS 588870	Desoxi, MOE y (S)-cEt	446	14	1,4	3,3

#### Estudio 6 (con gámpmeros MOE, oligonucleótidos desoxi, MOE y (S)-cEt y gámpmeros (S)-cEt)

Las ratas se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron a voluntad con comida normal para ratas Purina, dieta 5001. A grupos de 4 ratas se les inyectaron a cada uno por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas 100 mg/kg de gámpmeros MOE o 50 mg/kg de oligonucleótido desoxi, MOE y (S)-cEt o gámpmero (S)-cEt. A un grupo de control de 4 ratas se le inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron las ratas y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

#### Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles plasmáticos de transaminasas el día 42 usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles plasmáticos de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la tabla a continuación expresados en UI/l.

**Tabla 195**

Marcadores de función hepática

	Química	Dosis (mg/kg/semana)	ALT (UI/l)	AST (UI/l)	Albúmina (g/dl)
PBS	-	-	54	73	4,3
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	57	114	4,4
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	176	180	4,3
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	71	132	4,1
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	89	202	4,4
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	75	152	3,9
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	50	71	4,1
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	80	133	3,6
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	59	112	3,9
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	97	142	3,8
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	53	82	3,9
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	198	172	4,4

#### Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles ureicos de proteína total y creatinina usando un analizador de bioquímica clínica automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido se excluyeron en otros estudios.

**Tabla 196**

Proporción proteína total/creatinina en la orina de ratas

	Química	Dosis (mg/kg/semana)	Proporción P/C
PBS	-	-	1,1
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	8,3
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	6,5
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	6,1
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	10,1
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	7,9
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	6,6
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	7,6
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	7,0
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	6,2
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	5,2
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	5,3

5

**Pesos**

Las mediciones de peso corporal se tomaron el día 39. Se midieron los pesos de hígado, corazón, bazo y riñón al final del estudio el día 42, y se presentan en la tabla a continuación. Los resultados de los pesos de órganos se expresaron como una proporción con respecto a los pesos corporales y se normalizaron a la proporción de control de PBS.

10

**Tabla 197**

Proporciones pesos de órganos/peso corporal (PC)

15

	Química	Dosis (mg/kg/semana)	Bazo/PC	Hígado/P C	Riñón/PC
PBS	-	-	1,0	1,0	1,0
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	2,0	1,2	1,0
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	2,8	1,3	1,0
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	2,2	1,1	1,0
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	2,2	1,4	1,0
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	2,5	1,3	1,1
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	2,1	1,3	1,1
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	3,9	1,4	1,1
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	4,1	1,4	1,4
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	1,8	1,3	1,0
ISIS 588848	Desoxi, MOE y (S)-cEt	50	3,1	1,3	1,1
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	1,7	1,0	1,1

**Ejemplo 128: eficacia de los oligonucleótidos antisentido frente a ARNm de CFB en ratones hCFB**

Se sometieron a prueba los compuestos seleccionados para determinar la eficacia en ratones transgénicos CFB humanos, línea fundadora n.º 6. El gen CFB humano se localiza en el cromosoma 6: posición 31913721 - 31919861. Se seleccionó un fósforo (ABC14-50933200C23) que contenía la secuencia de CFB para producir ratones transgénicos que expresan el gen CFB humano. Se usaron enzimas de restricción Cla I (31926612) y Age I (31926815) para generar un fragmento de 22.127 pb que contenía el gen CFB para inyección pronuclear. El ADN se confirmó por análisis de enzimas de restricción usando Pvu I. El fragmento de ADN de 22.127 pb se inyectó en embriones C57BL/6NTac. Se criaron 6 fundadores positivos. El fundador n.º 6 expresó el ARNm de CFB humano

20

25



hepático y se cruzó con la 3.<sup>a</sup> generación. Se usó la descendencia de ratones de 3.<sup>a</sup> generación para evaluar los ASO de CFB humanos para determinar la reducción de ARNm de CFB humano.

### Tratamiento

A grupos de 3 ratones se les inyectaron a cada uno por vía subcutánea dos veces por semana durante la primera semana 50 mg/kg de oligonucleótidos ISIS, seguido de una dosificación una vez por semana de 50 mg/kg de oligonucleótidos ISIS durante tres semanas adicionales. A un grupo de control de 4 ratones se le inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 2 semanas durante la primera semana PBS durante la primera semana durante tres semanas adicionales. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron los ratones y se obtuvieron órganos y plasma para su análisis adicional.

### Análisis de ARN

Al final del período de dosificación, se extrajo ARN del hígado y el riñón para análisis de PCR ultrarrápida de los niveles de ARNm de CFB. Los niveles de ARNm de CFB humano se midieron usando el conjunto de sonda y cebador humano RTS3459. Los niveles de ARNm de CFB se normalizaron a RIBOGREEN®, y también al gen constitutivo, ciclofilina. Los resultados se calcularon como el porcentaje de inhibición de la expresión de ARNm de CFB en comparación con el control. Todos los oligonucleótidos antisentido efectuaron la inhibición de los niveles de ARNm de CFB humano en el hígado.

### Tabla 198

#### Porcentaje de reducción de los niveles de ARNm de CFB en ratones hCFB

N.º ISIS	Normalizado a RIBOGREEN	Normalizado a ciclofilina
532770	86	87
532800	88	87
532809	69	69
588540	95	94
588544	91	91
588548	78	77
588550	89	88
588553	94	94
588555	94	94
588848	83	82
594430	78	76

### Ejemplo 129: inhibición antisentido *in vivo* de CFB murino

Se diseñaron varios oligonucleótidos antisentido que se dirigieron a ARNm de CFB murino (n.º de acceso GENBANK NM\_008198.2, incorporado en el presente documento como SEQ ID NO: 5). Los sitios de inicio diana y las secuencias de cada oligonucleótido se describen en la tabla a continuación. Los oligonucleótidos antisentido quiméricos en la tabla a continuación se diseñaron como gápmeros 5-10-5 MOE. Los gápmeros tienen una longitud de 20 nucleósidos, en los que el segmento de hueco central está compuesto de 10 2'-desoxinucleósidos y se flanquea en ambos lados (en las direcciones 5' y 3') por alas que comprenden 5 nucleósidos cada una. Cada nucleósido en el segmento de ala 5' y cada nucleósido en el segmento de ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gápmero son enlaces fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gápmero son 5-metilcitosinas.

### Tabla 199

Gápmeros dirigidos a CFB murino

N.º ISIS	Secuencia	Sitio de inicio diana en SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO
516269	GCATAAGAGGGTACCAGCTG	2593	804
516272	GTCCTTTAGCCAGGGCAGCA	2642	805

N.º ISIS	Secuencia	Sitio de inicio diana en SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO
516323	TCCACCCATGTTGTGCAAGC	1568	806
516330	CCACACCATGCCACAGAGAC	1826	807
516341	TTCCGAGTCAGGCTCTTCCC	2308	808

### Tratamiento

- 5 A grupos de cuatro ratones C57BL/6 se les inyectaron a cada uno 50 mg/kg de ISIS 516269, ISIS 516272, ISIS 516323, ISIS 516330 o ISIS 516341 administrados semanalmente durante 3 semanas. A un grupo de control de ratones se le inyectó solución salina tamponada con fosfato (PBS) administrada semanalmente durante 3 semanas.

### Análisis de ARN de CFB

- 10 Al final del estudio, se extrajo ARN del tejido hepático para el análisis de PCR ultrarrápida de CFB, usando el conjunto de sonda y cebador RTS3430 (secuencia directa GGGCAAACAGCAATTTGTGA, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 816; secuencia inversa TGGCTACCCACCTTCCTTGT, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 817; secuencia de sonda CTGGATACTGTCCCAATCCCGGTATTCCX, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 818). Los niveles de ARNm se normalizaron usando RIBOGREEN®. Como se muestra en la tabla a continuación, algunos de los oligonucleótidos antisentido lograron la reducción de CFB murino sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control.

**Tabla 200**

- 20 Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB murino en ratones C57BL/6

N.º ISIS	%
516269	29
516272	72
516323	77
516330	62
516341	72

### Análisis de proteínas

- 25 Los niveles de proteína CFB se midieron en el riñón, hígado, plasma y en el ojo por inmunoelectrotransferencia usando anticuerpo anti-CFB de cabra (Sigma Aldrich). Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control de PBS. 'np' indica que no se tomaron medidas para esa muestra. Como se muestra en la tabla a continuación, la inhibición antisentido de CFB por oligonucleótidos ISIS dio como resultado una reducción de proteína CFB en diversos tejidos. Como se muestra en la tabla a continuación, la administración sistémica de oligonucleótidos ISIS fue eficaz para reducir los niveles de CFB en el ojo.

**Tabla 201**

- 35 Porcentaje de inhibición de proteína CFB murina en ratones C57BL/6

N.º ISIS	Riñón	Hígado	Plasma	Ojo
516269	20	58	np	70
516272	48	74	np	99
516323	73	85	90	93
516330	77	80	np	np
516341	80	88	68	np

### Ejemplo 130: inhibición antisentido dependiente de la dosis de CFB murino

- 40 A grupos de cuatro ratones C57BL/6 se les inyectaron a cada uno 25 mg/kg, 50 mg/kg o 100 mg/kg de ISIS 516272

e ISIS 516323 administrados semanalmente durante 6 semanas. A otros dos grupos de ratones se les inyectaron 100 mg/kg de ISIS 516330 o ISIS 516341 administrados semanalmente durante 6 semanas. A dos grupos de control de ratones se les inyectó solución salina tamponada con fosfato (PBS) administrada semanalmente durante 6 semanas.

#### Análisis de ARN de CFB

Se extrajo ARN de tejidos hepáticos y renales para el análisis de PCR ultrarrápida de CFB, usando el conjunto de sonda y cebador RTS3430. Los niveles de ARNm se normalizaron usando RIBOGREEN®. Como se muestra en la tabla a continuación, los oligonucleótidos antisentido lograron una reducción dependiente de la dosis de CFB murino sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control.

**Tabla 202**

Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB murino en ratones C57BL/6

N.º ISIS	Dosis (mg/kg/semana)	Hígado	Riñón
516272	25	39	32
	50	73	36
	100	87	42
516323	25	36	41
	50	65	47
	100	79	71
516330	100	85	45
516341	200	89	65

#### Análisis de proteínas

Los niveles de proteína CFB se midieron en el plasma por inmunoelctrotransferencia usando anticuerpo anti-CFB de cabra (Sigma Aldrich). Como se muestra en la tabla a continuación, la inhibición antisentido de CFB por los oligonucleótidos ISIS dio como resultado una reducción de proteína CFB. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control de PBS. 'np' indica que no se tomaron medidas para esa muestra.

Los niveles de proteína CFB también se midieron en el ojo por inmunoelctrotransferencia. Todos los grupos de tratamiento demostraron una inhibición de CFB en un 95 %, estando algunas mediciones de muestras por debajo de los niveles de detección del ensayo.

**Tabla 203**

Porcentaje de inhibición de proteína CFB murina en ratones C57BL/6

N.º ISIS	Dosis (mg/kg/semana)	Hígado
516272	25	32
	50	70
	100	83
516323	25	43
	50	80
	100	90
516330	100	np
516341	200	np

#### Ejemplo 131: efecto de la inhibición antisentido de CFB en el modelo de ratón NZB/W F1

El NZB/W F1 es el modelo clásico más antiguo de lupus, donde los ratones desarrollan fenotipos similares a lupus grave comparables a los de los pacientes con lupus (Theofilopoulos, A.N. y Dixon, F.J. Advances in Immunology, vol. 37, pp. 269-390, 1985). Estos fenotipos similares a lupus incluyen linfadenopatía, esplenomegalia, niveles

elevados de autoanticuerpos antinucleares (AAN) séricos, incluyendo IgG anti-ADNbc, de los que una mayoría son IgG2a e IgG3, y glomerulonefritis (GN) mediada por complejos inmunitarios que se vuelve evidente a los 5-6 meses de edad, dando lugar a insuficiencia renal y muerte a los 10-12 meses de edad.

## 5 Estudio 1

Se realizó un estudio para demostrar que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB mejoraría la patología renal en el modelo de ratón. Se adquirieron ratones hembra NZB/W F1, de 17 semanas de edad, de Jackson Laboratories. Cada grupo de 16 ratones recibió cada uno dosis de 100 µg/kg/semana de ISIS 516272 o ISIS 516323 durante 20 semanas. Otro grupo de 16 ratones recibió dosis de 100 µg/kg/semana del oligonucleótido control ISIS 141923 durante 20 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de PBS durante 20 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los criterios de valoración terminales se obtuvieron 48 horas después de inyectar la última dosis.

## 15 Análisis de ARN de CFB

Se extrajo ARN de tejido hepático y renal para el análisis de PCR ultrarrápida de CFB, usando el conjunto de sonda y cebador RTS3430. Los niveles de ARNm se normalizaron usando RIBOGREEN®. Como se muestra en la tabla a continuación, algunos de los oligonucleótidos antisentido lograron la reducción de CFB murino sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control.

**Tabla 204**

Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB murino en ratones NZB/W F1

25

N.º ISIS	Hígado	Riñón
516272	55	25
516323	63	43
141923	0	0

## Proteinuria

Se espera proteinuria en un 60 % de los animales en este modelo de ratón. La incidencia acumulada de proteinuria grave se midió calculando la proporción de proteína total con respecto a creatinina usando un analizador clínico. Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB logró una reducción de la proteinuria en los ratones en comparación con el control de PBS y los ratones tratados con oligonucleótidos de control.

## 35 Tabla 205

Porcentaje de incidencia acumulada de proteinuria grave en ratones NZB/W F1

	%
PBS	40
ISIS 516272	6
ISIS 516323	0
ISIS 141923	25

## 40 Supervivencia

La supervivencia de los ratones se siguió llevando el recuento de los ratones al comienzo del tratamiento y a continuación de nuevo en la semana 20. Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB incrementó la supervivencia en los ratones en comparación con el control de PBS y los ratones tratados con oligonucleótidos de control.

45

**Tabla 206**

Número de ratones supervivientes y % supervivencia

	Semana 1	Semana 20	% supervivencia en la semana 20
PBS	10	6	60
ISIS 516272	16	15	94
ISIS 516323	16	16	100
ISIS 141923	16	12	75

**Depósito glomerular**

La cantidad de depósito de C3, así como el depósito de IgG, en los glomérulos de los riñones se midió por inmunohistoquímica con un anticuerpo anti-C3. Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB logró una reducción de depósitos tanto de C3 como de IgG en los glomérulos renales en comparación con el control de PBS y los ratones tratados con oligonucleótidos de control.

**Tabla 207**

Porcentaje de inhibición del depósito de glomérulos en ratones NZB/W F1

N.º ISIS	C3	IgG
516272	45	20
516323	48	2
141923	0	0

**Estudio 2**

Se adquirieron ratones hembra NZB/W F1, de 16 semanas de edad, de Jackson Laboratories. Un grupo de 10 ratones recibió dosis de 100 µg/kg/semana de ISIS 516323 durante 12 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de 100 µg/kg/semana del oligonucleótido control ISIS 141923 durante 12 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de PBS durante 12 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los criterios de valoración terminales se obtuvieron 48 horas después de inyectar la última dosis.

**Análisis de ARN de CFB**

Se extrajo ARN de tejido hepático y renal para el análisis de PCR ultrarrápida de CFB, usando el conjunto de sonda y cebador RTS3430. Como se muestra en la tabla a continuación, el tratamiento con ISIS 516323 logró una reducción de CFB murino sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control.

**Tabla 208**

Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB murino en ratones NZB/W F1

N.º ISIS	Hígado	Riñón
516323	75	46
141923	0	6

**Proteinuria**

La incidencia acumulada de proteinuria grave se evaluó midiendo la proporción de proteína total en orina con respecto a creatinina, así como midiendo los niveles de microalbúmina total. Los resultados se presentan en las tablas a continuación y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB redujo la proteinuria en los ratones en comparación con el control de PBS y los ratones tratados con oligonucleótidos de control.

**Tabla 209**

Proteinuria en ratones NZB/W F1 medida como niveles de microalbúmina en orina (mg/dl)

N.º ISIS	Semana 0	Semana 6	Semana 8	Semana 10
516323	0	0	5,4	0,4
141923	0	8,28	8,6	5,6

**Tabla 210**

Proteinuria en ratones NZB/W F1 medida como proporción de proteína total con respecto a creatinina

N.º ISIS	Semana 0	Semana 6	Semana 8	Semana 10
516323	5,5	7,8	8,6	7,2
141923	6,9	10,0	13,5	7,2

### Supervivencia

La supervivencia de los ratones se siguió llevando el recuento de los ratones al comienzo del tratamiento y a continuación de nuevo en la semana 12. Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB incrementó la supervivencia en los ratones en comparación con el control de PBS y los ratones tratados con oligonucleótidos de control.

**Tabla 211**

Número de ratones supervivientes

	Semana 1	Semana 12
PBS	10	9
ISIS 516323	10	10
ISIS 141923	10	9

### Ejemplo 132: efecto de la inhibición antisentido de CFB en el modelo de ratón MRL

El modelo de ratón con nefritis lúpica MRL/lpr desarrolla un fenotipo similar a LES caracterizado por linfadenopatía debido a una acumulación de linfocitos T doble negativo (CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup>) y B220<sup>+</sup>. Estos ratones muestran una tasa de mortalidad acelerada. Además, los ratones tienen altas concentraciones de inmunoglobulinas circulantes, que incluyen niveles elevados de autoanticuerpos tales como ANA, anti-ADNmc, anti-ADNbc, anti-Sm y factores reumatoides, lo que da como resultado grandes cantidades de inmunocomplejos (Andrews, B. *et al.*, J. Exp. Med. 148: 1198-1215, 1978).

### Tratamiento

Se realizó un estudio para investigar si el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB invertiría la patología renal en el modelo de ratón. Se adquirieron ratones hembra MRL/lpr, de 14 semanas de edad, de Jackson Laboratories. Un grupo de 10 ratones recibió dosis de 50 µg/kg/semana de ISIS 516323 durante 7 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de 50 µg/kg/semana del oligonucleótido control ISIS 141923 durante 7 semanas. Otro grupo de 10 ratones recibió dosis de PBS durante 7 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los criterios de valoración terminales se obtuvieron 48 horas después de inyectar la última dosis.

### Análisis de ARN de CFB

Se extrajo ARN de tejido hepático para el análisis de PCR ultrarrápida de CFB, usando el conjunto de sonda y cebador RTS3430. Como se muestra en la tabla a continuación, ISIS 516323 redujo CFB sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control.

**Tabla 212**

Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB murino en ratones MRL/lpr

N.º ISIS	%
516323	68
141923	4

5

**Patología renal**

La patología renal se evaluó por dos procedimientos. Los cortes histológicos del riñón se tiñeron con hematoxilina y eosina. El control de PBS demostró la presencia de cilindros tubulares en semilunas multiglomerulares, lo que es un síntoma de glomeruloesclerosis. Por el contrario, los cortes de ratones tratados con ISIS 516323 mostraron cilindros tubulares en semilunas ausentes con cambios fibróticos mínimos en la cápsula de Bowman, expansión de células mesangiales segmentarias de moderada a grave y engrosamiento de la membrana basal glomerular.

10

La acumulación de C3 en el riñón también se evaluó por inmunohistoquímica con anticuerpos anti-C3. La puntuación de intensidad inmunohistoquímica de C3 de riñón completo se calculó por un sistema de puntuación de intensidad, que se computó capturando 10 glomérulos por riñón y calculando la intensidad de la tinción de C3 positiva. Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el tratamiento con ISIS 516323 redujo la acumulación de C3 renal en comparación con los grupos de control.

15

**Tabla 213**

Acumulación de C3 renal en ratones MRL/lpr

	Puntuación de intensidad de C3 de riñón completo	Cuantificación de C3 (área/área total) % PBS promedio
PBS	2,5	100
ISIS 516323	1,6	68
ISIS 141923	2,2	99

25

**Niveles de C3 en plasma**

La reducción de CFB inhibe la activación de la vía alternativa del complemento, previniendo el consumo de C3 y dando lugar a una elevación aparente de los niveles de C3 en plasma. Los niveles de C3 en plasma de una extracción terminal se midieron por un analizador clínico. Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el tratamiento con ISIS 516323 incrementó los niveles de C3 ( $p < 0,001$ ) en el plasma en comparación con los grupos de control.

30

**Tabla 214**

Niveles de C3 en plasma (mg/dl) en ratones MRL/lpr

N.º ISIS	C3
516323	28
141923	16

Los resultados indican que el tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB invierte la patología renal en el modelo de ratón con lupus.

40

**Ejemplo 133: efecto de la inhibición antisentido de CFB en el modelo de ratón CFH Het**

El modelo de ratón heterocigoto CFH (CFH Het, CFH<sup>+/-</sup>) expresa una proteína factor H mutante en combinación con la proteína de ratón de longitud completa (Pickering, M.C. *et al.*, J. Exp. Med. 2007. 204: 1249-56). La histología renal sigue siendo normal en estos ratones hasta los seis meses de edad.

45

**Estudio 1**

Grupos de 8 ratones CFH<sup>+/-</sup>, de 6 semanas de edad, recibieron cada uno dosis de 75 mg/kg/semana de ISIS 516323 o ISIS 516341 durante 6 semanas. Otro grupo de 8 ratones recibió dosis de 75 mg/kg/semana del oligonucleótido de control ISIS 141923 durante 6 semanas. Otro grupo de 8 ratones recibió dosis de PBS durante

50

6 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los criterios de valoración terminales se obtuvieron 48 horas después de inyectar la última dosis.

#### Análisis de ARN de CFB

Se extrajo ARN de tejido hepático y renal para el análisis de PCR ultrarrápida de CFB, usando el conjunto de sonda y cebador RTS3430. Como se muestra en la tabla a continuación, los oligonucleótidos antisentido redujeron CFB sobre el control de PBS. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control.

**Tabla 215**

Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB murino en ratones CFH<sup>+/-</sup>

N.º ISIS	Hígado	Riñón
516323	80	38
516341	90	44
141923	0	17

#### Niveles de C3 en plasma

La reducción de CFB inhibe la activación de la vía alternativa del complemento, previniendo el consumo de C3 y dando lugar a una elevación aparente de los niveles de C3 en plasma. Los niveles de C3 en plasma de la obtención de plasma terminal se midieron por un analizador clínico. Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el tratamiento con ISIS 516323 incrementó C3 a niveles normales en el plasma.

**Tabla 216**

Niveles de C3 en plasma (mg/dl) en ratones CFH<sup>+/-</sup>

N.º ISIS	C3
516323	15
516341	17
141923	8

#### Estudio 2

Cada grupo de 5 ratones CFH<sup>+/-</sup> recibió dosis de 12,5 mg/kg/semana, 25 mg/kg/semana, 50 mg/kg/semana, 75 mg/kg/semana o 100 mg/kg/semana de ISIS 516323 o ISIS 516341 durante 6 semanas. Otro grupo de 5 ratones recibió dosis de 75 µg/kg/semana del oligonucleótido control ISIS 141923 durante 6 semanas. Otro grupo de 5 ratones recibió dosis de PBS durante 6 semanas y sirvió como grupo de control con el que se compararon todos los otros grupos. Los criterios de valoración terminales se obtuvieron 48 horas después de inyectar la última dosis.

#### Análisis de ARN de CFB

Se extrajo ARN de tejido hepático y renal para el análisis de PCR ultrarrápida de CFB, usando el conjunto de sonda y cebador RTS3430. Como se muestra en la tabla a continuación, los oligonucleótidos antisentido redujeron CFB sobre el control de PBS de manera dependiente de la dosis. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de CFB, en relación con el control.

**Tabla 217**

Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB murino en el hígado de ratones CFH<sup>+/-</sup>

N.º ISIS	Dosis (mg/kg/semana)	%
516323	12,5	34
	25	51
	50	72
	75	79
	100	92



N.º ISIS	Dosis (mg/kg/semana)	%
516341	12,5	38
	25	57
	50	89
	75	92
	100	90
141923	75	13

#### Niveles de C3 en plasma

La reducción de CFB inhibe la activación de la vía alternativa del complemento, previniendo el consumo de C3 y dando lugar a una elevación aparente de los niveles de C3 en plasma. Los niveles de C3 en plasma de la obtención de plasma terminal se midieron por un analizador clínico. Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el tratamiento con oligonucleótidos ISIS dirigidos a CFB incrementó los niveles de C3 en el plasma.

**Tabla 218**

Niveles de C3 en plasma (mg/dl) en ratones CFH<sup>+/-</sup>

	Dosis (mg/kg/semana)	C3
PBS	-	10,1
516323	12,5	11,4
	25	15,5
	50	17,0
	75	18,3
	100	18,8
516341	12,5	12,1
	25	16,3
	50	18,6
	75	22,1
	100	19,1
141923	75	8,9

#### Ejemplo 134: efecto de los oligonucleótidos antisentido ISIS dirigidos a CFB humano en macacos cangrejeros

Se trataron macacos cangrejeros con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de estudios descritos en los ejemplos anteriores. Se evaluaron la eficacia y la tolerabilidad de oligonucleótidos antisentido, así como su perfil farmacocinético en el hígado y el riñón.

En el momento en que se llevó a cabo este estudio, la secuencia genómica del macaco cangrejero no estaba disponible en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI); por lo tanto, no se pudo confirmar la reactividad cruzada con la secuencia génica del macaco cangrejero. En cambio, las secuencias de los oligonucleótidos antisentido ISIS usados en los macacos cangrejeros se compararon con una secuencia de macaco de la India para determinar la homología. Se espera que los oligonucleótidos ISIS con homología para la secuencia del macaco de la India tengan reactividad cruzada completa también con la secuencia del macaco cangrejero. Los oligonucleótidos antisentido humanos sometidos a prueba tienen reactividad cruzada con la secuencia genómica de macaco de la India (n.º de acceso GENBANK NW\_001116486.1 truncado de los nucleótidos 536000 a 545000, designado en el presente documento como SEQ ID NO: 3). Cuanto mayor sea la complementariedad entre el oligonucleótido humano y la secuencia de macaco de la India, más probable es que el oligonucleótido humano pueda reaccionar de forma cruzada con la secuencia de macaco de la India. Los sitios de inicio y parada de cada oligonucleótido dirigido a SEQ ID NO: 3 se presentan en la tabla a continuación. "Sitio de inicio" indica el nucleótido más hacia 5' al que se dirige el gámpero en la secuencia génica de macaco de la India. "Emparejamientos erróneos" indica el número de nucleobases en el oligonucleótido humano que se emparejan erróneamente con la secuencia genómica de macaco de la India.

**Tabla 219**

Oligonucleótidos antisentido complementarios a la secuencia genómica de CFB de macaco de la India (SEQ ID NO: 3)

N.º ISIS	Sitio de inicio diana	Emparejamientos erróneos	Química	SEQ ID NO
532770	6788	0	5-10-5 MOE	198
532800	7500	0	5-10-5 MOE	228
532809	7614	0	5-10-5 MOE	237
588540	7627	1	5-10-5 MOE	440
588544	7631	1	5-10-5 MOE	444
588548	7635	1	5-10-5 MOE	448
588550	7637	1	5-10-5 MOE	450
588553	7640	1	5-10-5 MOE	453
588555	7643	0	5-10-5 MOE	455
588848	7639	1	Desoxi, MOE y cEt	598
594430	6790	0	3-10-3 cEt	549

5

**Tratamiento**

Antes del estudio, los monos se mantuvieron en cuarentena durante al menos un período de 30 días, durante el que se observó a los animales diariamente para comprobar su salud general. Los monos tenían 2-4 años de edad y pesaban entre 2 y 4 kg. A once grupos de 4-6 macacos cangrejeros macho asignados al azar se les inyectó subcutáneamente oligonucleótido ISIS o PBS en cuatro sitios en el lomo en una rotación horaria (es decir, izquierda, arriba, derecha y abajo), un sitio por dosis. Los monos recibieron cuatro dosis de carga de PBS o 40 mg/kg de ISIS 532800, ISIS 532809, ISIS 588540, ISIS 588544, ISIS 588548, ISIS 588550, ISIS 588553, ISIS 588555, ISIS 588848 o ISIS 594430 durante la primera semana (días 1, 3, 5 y 7), y posteriormente recibieron dosis una vez por semana durante 12 semanas (días 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 y 84) con PBS o 40 mg/kg de oligonucleótido ISIS. ISIS 532770 se sometió a prueba en un estudio separado con condiciones similares con dos macacos cangrejeros macho y dos hembras en el grupo.

20

**Reducción de diana hepática****Análisis de ARN**

El día 86, se obtuvieron muestras de hígado y riñón por duplicado (aproximadamente 250 mg cada una) para el análisis de ARNm de CFB. Las muestras se ultracongelaron en nitrógeno líquido en la necropsia en aproximadamente 10 minutos desde el sacrificio.

25

Se extrajo ARN de hígado y riñón para el análisis de PCR ultrarrápida de la medición de la expresión del ARNm de CFB. Los resultados se presentan como porcentaje de cambio de ARNm, en relación con el control de PBS, normalizado con RIBOGREEN®. Los niveles de ARN también se normalizaron con el gen constitutivo, ciclofilina A. Los niveles de ARN se midieron con los conjuntos de sonda y cebador RTS3459, descritos anteriormente, o

30

RTS4445\_MGB (secuencia directa CGAAGAAGCTCAGTGAAATCAA, designada en el presente documento como SEQ

ID NO: 819; secuencia inversa TGCCTGGAGGGCCCTCTT, designada en el presente documento como SEQ ID NO:

820; secuencia de sonda AGACCACAAGTTGAAGTC, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 815).

35

Como se muestra en las tablas a continuación, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido ISIS dio como resultado una reducción del ARNm de CFB en comparación con el control de PBS. El análisis de los niveles de ARNm de CFB reveló que varios de los oligonucleótidos ISIS redujeron los niveles de CFB en hígado y/o riñón. Aquí '0' indica que los niveles de expresión no se inhibieron. '\*' indica que el oligonucleótido se sometió a prueba en un estudio separado con condiciones similares.

40

**Tabla 220**

Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB en el hígado de macaco cangrejero en relación con el control de PBS

N.º ISIS	RTS3459/ Ciclofilina A	RTS3459/ RIBOGREEN	RTS445_MGB/ Ciclofilina A	RTS445_MGB / RIBOGREEN
532770*	12	37	24	45
532800	54	45	56	46
588540	31	27	28	24
588548	68	67	68	67
588550	53	39	51	37
588553	74	59	74	59
588555	73	71	71	69
588848	9	0	6	0
594430	24	26	23	25

**Tabla 221**

Porcentaje de inhibición de ARNm de CFB en el riñón de macaco cangrejero en relación con el control de PBS

N.º ISIS	RTS3459/ Ciclofilina A	RTS3459/ RIBOGREEN	RTS445_MGB/ Ciclofilina A	RTS445_MGB/ RIBOGREEN
532770*	34	56	2	31
532800	36	30	43	37
588540	70	71	67	69
588548	83	84	82	83
588550	81	77	78	74
588553	86	84	86	85
588555	32	34	48	50
588848	89	91	87	90
594430	33	37	19	23

### Análisis de proteínas

Se obtuvo aproximadamente 1 ml de sangre de todos los animales disponibles el día 85 y se colocó en tubos que contenían la sal potásica de EDTA. Las muestras de sangre se dispusieron de inmediato en hielo o Kryorack y se centrifugaron (3000 rpm durante 10 min a 4 °C) para obtener plasma (aproximadamente 0,4 ml) dentro de los 60 minutos de la obtención. Se midieron los niveles plasmáticos de CFB en el plasma por inmunodifusión radial (RID), usando un anticuerpo policlonal anti-factor B. Los resultados se presentan en la tabla a continuación. ISIS 532770 se sometió a prueba en un estudio separado y los niveles de proteína en plasma se midieron el día 91 o 92 en ese grupo.

El análisis de CFB en plasma reveló que varios oligonucleótidos ISIS redujeron los niveles de proteína de manera prolongada. ISIS 532770, que se sometió a prueba en un estudio separado, redujo los niveles de proteína CFB el día 91/92 en un 50 % en comparación con los valores de referencia. La reducción en los niveles de proteína de CFB en plasma se correlaciona bien con la reducción del nivel de ARNm de CFB hepático en los correspondientes grupos de animales.

**Tabla 222**

Niveles de proteína en plasma (% valores de referencia) en el macaco cangrejero

	Día 1	Día 30	Día 58	Día 72	Día 86
PBS	113	115	95	83	86
ISIS 532800	117	68	52	39	34
ISIS 532809	104	121	100	80	71
ISIS 588540	108	72	61	40	38
ISIS 588544	118	74	53	33	29
ISIS 588548	110	41	28	20	16

	Día 1	Día 30	Día 58	Día 72	Día 86
ISIS 588550	104	64	54	38	37
ISIS 588553	97	42	35	18	16
ISIS 588555	107	35	37	18	18
ISIS 588848	116	95	92	69	71
ISIS 594430	104	64	59	45	46

## Estudios de tolerabilidad

### Mediciones de peso corporal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la salud general de los animales, se midieron los pesos corporales y de órganos y se presentan en la tabla a continuación. \*\* indica que el oligonucleótido se sometió a prueba en un estudio separado con condiciones similares y es el promedio de las mediciones de monos macho y hembra. Los resultados indican que el efecto del tratamiento con oligonucleótidos antisentido sobre el peso corporal y de órganos estuvo dentro del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido.

**Tabla 223**

Pesos corporales finales (g) en macaco cangrejero

	Día 1	Día 14	Día 28	Día 42	Día 56	Día 70	Día 84
PBS	2887	2953	3028	3094	3125	3143	3193
ISIS 532770*	2963	2947	2966	3050	3097	3138	3160
ISIS 532800	2886	2976	3072	3149	3220	3269	3265
ISIS 532809	2755	2836	2927	2983	3019	3071	3098
ISIS 588540	2779	2834	2907	2934	2981	3034	3057
ISIS 588544	2837	2896	3009	3064	3132	3163	3199
ISIS 588548	2694	2816	2882	2990	3073	3149	3161
ISIS 588550	2855	2988	3062	3188	3219	3282	3323
ISIS 588553	3033	3156	3256	3335	3379	3372	3442
ISIS 588555	2757	2863	2965	3022	3075	3088	3158
ISIS 588848	2850	3018	3032	3187	3230	3212	3291
ISIS 594430	2884	2963	2953	3149	3187	3204	3256

**Tabla 224**

Pesos de órganos finales (g) en macaco cangrejero

	Bazo	Corazón	Riñón	Hígado
PBS	2,8	11,6	11,9	55,8
ISIS 532770*	5,0	11,3	20,6	77,9
ISIS 532800	6,2	11,9	18,6	94,4
ISIS 588540	4,0	11,4	13,5	67,1
ISIS 588548	4,1	11,7	17,3	72,0
ISIS 588550	5,8	10,9	18,5	81,8
ISIS 588553	5,0	12,7	17,2	85,9
ISIS 588555	4,7	11,8	15,9	88,3
ISIS 588848	5,0	12,7	14,4	75,7
ISIS 594430	3,9	11,9	14,8	69,9

### Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se obtuvieron muestras de sangre de todos los grupos de estudio. Las muestras de sangre se obtuvieron de las venas cefálica, safena o femoral, 48 horas después de la dosificación. Los monos se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de la obtención de sangre. Se obtuvo sangre (1,5 ml) en tubos sin anticoagulante para la separación del suero. Los tubos se

mantuvieron a temperatura ambiente durante un mínimo de 90 minutos y a continuación se centrifugaron (aproximadamente 3000 rpm durante 10 min) para obtener suero. Los niveles de diversos marcadores de función hepática se midieron usando un analizador químico Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón).

Se midieron los niveles plasmáticos de ALT y AST y los resultados se presentan en la tabla a continuación, expresados en IU/l. La bilirrubina, un marcador de la función hepática, se midió de forma similar y se presenta en la tabla a continuación expresada en mg/dl. \*\* indica que el oligonucleótido se sometió a prueba en un estudio separado con condiciones similares y es el promedio de las mediciones de monos macho y hembra. Los resultados indican que la mayoría de los oligonucleótidos antisentido no tuvieron ningún efecto sobre la función hepática fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido.

**Tabla 225**

Niveles de marcadores de química hepática en plasma de macaco cangrejero el día 86

	ALT (U/l)	AST (U/l)	Bilirrubina (mg/dl)
PBS	71	57	0,3
ISIS 532770*	59	58	0,1
ISIS 532800	65	86	0,1
ISIS 532809	35	58	0,1
ISIS 588540	70	88	0,2
ISIS 588544	55	97	0,2
ISIS 588548	61	85	0,2
ISIS 588550	94	84	0,2
ISIS 588553	44	65	0,2
ISIS 588555	63	84	0,2
ISIS 588848	69	65	0,2
ISIS 594430	86	53	0,2

#### Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se obtuvieron muestras de sangre de todos los grupos de estudio. Las muestras de sangre se obtuvieron de las venas cefálica, safena o femoral, 48 horas después de la dosificación. Los monos se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de la obtención de sangre. Se obtuvo sangre en tubos sin anticoagulante para la separación del suero. Los tubos se mantuvieron a temperatura ambiente durante un mínimo de 90 minutos y a continuación se centrifugaron (aproximadamente 3000 rpm durante 10 min) para obtener suero. Los niveles de BUN y creatinina se midieron usando un analizador químico Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón). Los resultados se presentan en la tabla a continuación, expresados en mg/dl. \*\* indica que el oligonucleótido se sometió a prueba en un estudio separado con condiciones similares y es el promedio de las mediciones de monos macho y hembra.

Para el análisis de orina, se obtuvo orina fresca de todos los animales por la mañana usando una bandeja de jaula limpia sobre hielo húmedo. Se retiró la comida durante la noche del día antes de la obtención de orina, pero se suministró agua. Las muestras de orina (aproximadamente 1 ml) se analizaron para determinar la proporción de proteína con respecto a creatinina (P/C) usando un analizador químico automatizado Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón), 'nd' indica que el nivel de proteína ureico estaba por debajo del límite de detección del analizador.

Los datos químicos de plasma y orina indican que la mayoría de los oligonucleótidos ISIS no tuvieron ningún efecto sobre la función renal fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido.

**Tabla 226**

Niveles de marcadores de química renal (mg/dl) en plasma de macaco cangrejero el día 86

	BUN	Creatinina	Proteína total
PBS	28	0,9	8,0
ISIS 532770*	20	0,9	6,9
ISIS 532800	25	0,9	7,5
ISIS 532809	23	0,8	7,4

	BUN	Creatinina	Proteína total
ISIS 588540	30	0,8	7,5
ISIS 588544	26	0,9	7,4
ISIS 588548	25	0,9	7,6
ISIS 588550	24	0,9	7,2
ISIS 588553	25	0,8	7,2
ISIS 588555	25	0,8	7,6
ISIS 588848	24	0,9	7,5
ISIS 594430	25	0,8	7,2

**Tabla 227**

Niveles de marcadores de química renal en orina de macaco cangrejero el día 44 y el día 86

5

	Día 44	Día 86
PBS	0,03	nd
ISIS 532800	0,01	nd
ISIS 532809	0,01	nd
ISIS 588540	0,03	nd
ISIS 588544	0,01	0,09
ISIS 588548	0,01	0,01
ISIS 588550	0,04	0,01
ISIS 588553	0,05	nd
ISIS 588555	0,03	0,03
ISIS 588848	0,09	nd
ISIS 594430	0,03	nd

**Hematología**

10

Para evaluar cualquier efecto de los oligonucleótidos ISIS en macacos cangrejeros sobre parámetros hemáticos, se obtuvieron muestras sanguíneas de aproximadamente 0,5 ml de sangre de cada uno de los animales de estudio disponibles en tubos que contenían K<sub>2</sub>-EDTA. Las muestras se analizaron para determinar el recuento de glóbulos rojos (RBC), recuento de glóbulos blancos (WBC), recuento de glóbulos blancos individuales, tales como monocitos, neutrófilos, linfocitos, así como recuento de plaquetas, contenido en hemoglobina y hematocrito, usando un analizador de hematología ADVIA120 (Bayer, EE. UU.). Los datos se presentan en las tablas a continuación. "\*" indica que el oligonucleótido se sometió a prueba en un estudio separado con condiciones similares y es el promedio de las mediciones de monos macho y hembra.

15

Los datos indican que los oligonucleótidos no provocaron ningún cambio en parámetros hemáticos fuera del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido a esta dosis.

20

**Tabla 228**

Hemogramas en macacos cangrejeros

	RBC (x 10 <sup>6</sup> /μl)	Plaquetas (x 10 <sup>3</sup> /μl)	WBC (x 10 <sup>3</sup> /μl)	Neutrófilos (% WBC)	Linfocitos (% total)	Monocitos (% total)
PBS	5,8	347	9,4	42,7	53,1	3,0
ISIS 532770*	5,4	386	10,8	22,3	71,7	3,3
ISIS 532800	5,6	360	13,1	29,5	61,1	6,5
ISIS 532809	5,2	400	11,5	56,6	38,2	2,5
ISIS 588540	5,5	367	11,7	50,9	42,7	2,1
ISIS 588544	5,2	373	14,3	56,6	37,6	4,3
ISIS 588548	5,1	373	9,7	40,4	54,3	3,9
ISIS 588550	6,1	343	9,9	32,1	61,7	4,6
ISIS 588553	5,2	424	9,3	41,7	53,2	3,6

	RBC (x 10 <sup>6</sup> /μl)	Plaquetas (x 10 <sup>3</sup> /μl)	WBC (x 10 <sup>3</sup> /μl)	Neutrófilos (% WBC)	Linfocitos (%) total)	Monocitos (% total)
ISIS 588555	5,1	411	9,6	45,1	49,7	3,5
ISIS 588848	5,7	370	10,0	39,8	55,8	3,1
ISIS 594430	5,7	477	10,6	47,3	47,8	3,6

**Tabla 229**

Parámetros hemáticos en macacos cangrejeros

5

	Hemoglobina (g/dl)	HCT (%)
PBS	14,1	46,6
ISIS 532770*	12,4	40,9
ISIS 532800	12,3	40,5
ISIS 532809	12,2	40,4
ISIS 588540	12,5	41,5
ISIS 588544	11,9	38,1
ISIS 588548	12,3	39,6
ISIS 588550	13,4	45,0
ISIS 588553	12,6	39,8
ISIS 588555	11,6	38,1
ISIS 588848	13,2	42,7
ISIS 594430	13,4	43,1

**Medición de la concentración de oligonucleótido**

La concentración del oligonucleótido de longitud completa se midió en los tejidos renales y hepáticos. El procedimiento usado es una modificación de procedimientos previamente publicados (Leeds *et al.*, 1996; Geary *et al.*, 1999) que consisten en una extracción con fenol-cloroformo (líquido-líquido) seguida de una extracción en fase sólida. Las concentraciones de muestras tisulares se calcularon usando curvas de calibración, con un límite inferior de cuantificación (LLOQ) de aproximadamente 1,14 μg/g. Los resultados se presentan en la tabla a continuación, expresados como μg/g de tejido hepático o renal.

15

**Tabla 230**

Distribución de oligonucleótidos antisentido

	Riñón (μg/g)	Hígado (μg/g)	Proporción riñón/hígado
ISIS 532800	3881	1633	2,4
ISIS 588540	3074	1410	2,2
ISIS 588548	3703	1233	3,0
ISIS 588550	4242	860	4,9
ISIS 588553	3096	736	4,2
ISIS 588555	4147	1860	2,2
ISIS 588848	2235	738	3,0
ISIS 594430	1548	752	2,1

20

**Ejemplo 135: estudio de eficacia de 6 semanas de oligonucleótidos antisentido no conjugados y 5'-THA-GalNAc3-conjugados dirigidos a CFB humano en ratones transgénicos**

Se sometieron a prueba dos oligonucleótidos antisentido que tienen la misma secuencia de nucleobases: oligonucleótido antisentido no conjugado ISIS 588540 y oligonucleótido antisentido 5'-THA-GalNAc3-conjugado ISIS 696844, en ratones transgénicos CFB humanos (ratones hCFB-Tg).

25

A los ratones se les administró por vía subcutánea ISIS 696844 en dosis de 0,1, 1,25, 0,5, 2,0, 6,0 o 12,0 mg/kg/semana o ISIS 588540 en dosis de 2, 6, 12, 25 o 50 mg/kg/semana durante 6 semanas. A un grupo de control de ratones se les administró por vía subcutánea PBS durante 6 semanas. Los ratones se sacrificaron 48

30

horas después de la última dosis. Los niveles de ARNm hepático se analizaron por qRT-PCR.

#### Estudio 1

- 5 Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el oligonucleótido antisentido 5'-THA-GalNAc3-conjugado dirigido a CFB es más potente que el oligonucleótido antisentido no conjugado con la misma secuencia.

**Tabla 231**

10 Eficacia de los oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB

	DE <sub>50</sub> (mg/kg)	DE <sub>75</sub> (mg/kg)
ISIS 588540	4,52	9,26
ISIS 696844	0,52	1,12

#### Estudio 2

- 15 Los niveles de ARNm hepático se midieron con dos conjuntos de sonda y cebador diferentes dirigidos a diferentes regiones del ARNm y se normalizaron a RIBOGREEN® (RGB) o bien ciclofilina. Los conjuntos de sonda y cebador fueron RTS3459, descrito anteriormente, y RTS3460 (secuencia directa CGAAGCAGCTCAATGAAATCAA, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 813; secuencia inversa TGCCTGGAGGGCCTTCTT, designada en el
- 20 presente documento como SEQ ID NO: 814; secuencia de sonda AGACCACAAGTTGAAGTC, designada en el presente documento como SEQ ID NO: 815). Los resultados se presentan en la tabla a continuación y demuestran que el oligonucleótido antisentido 5'-THA-GalNAc3-conjugado dirigido a CFB es más potente que el oligonucleótido antisentido no conjugado con la misma secuencia, independientemente del conjunto de sonda y cebador usado.

**Tabla 231**

25 Eficacia de los oligonucleótidos antisentido dirigidos a CFB

	DE <sub>50</sub> RTS3459 (RGB)	DE <sub>50</sub> RTS3460 (RGB)	DE <sub>50</sub> RTS3459 (ciclofilina)	DE <sub>50</sub> RTS3460 (ciclofilina)	DE <sub>75</sub> RTS3459 (RGB)	DE <sub>75</sub> RTS3460 (RGB)	DE <sub>75</sub> RTS3459 (ciclofilina)	DE <sub>75</sub> RTS3460 (ciclofilina)
ISIS 588540	4,5	4,1	5,2	5,4	9,3	10,0	10,0	9,3
ISIS 696844	0,5	0,5	0,6	0,5	1,1	1,3	1,2	0,9



## LISTADO DE SECUENCIAS

	<110>	Isis Pharmaceuticals	
5	<120>	COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS PARA MODULAR LA EXPRESIÓN DEL FACTOR B DEL COMPLEMENTO	
	<130>	BIOL0251WO	
10	<150>	62/076.273	
	<151>	06/11/2014	
15	<150>	61/987.471	
	<151>	01/05/2014	
	<160>	854	
20	<170>	PatentIn versión 3.5	
	<210>	1	
	<211>	2646	
25	<212>	ADN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	1	
		gactttctgca gttttctgttt ccttgactgg cagctcagcg gggccctccc gcttggatgt	60
		tccgggaaag tgatgtgggt aggacaggcg gggcgagccg caggtgccag aacacagatt	120
		gtataaaaagg ctgggggctg gtggggagca ggggaaggga atgtgaccag gtctaggtct	180
		ggagtttcag cttggacact gagccaagca gacaagcaaa gcaagccagg acacaccatc	240
		ctgccccagg ccagcttct ctctgcctt ccaacgccat ggggagcaat ctgagcccc	300
		aactctgoot gatgcccttt atottgggoc tottgtctgg aggtgtgacc accactccat	360
		ggtcttttggc cgggccccag ggatcctgct ctctggaggg ggtagagatc aaaggcggct	420
		ccttccgact tctccaagag ggccaggcac tggagtacgt gtgtccttct ggcttctacc	480
		cgtaccctgt gcagacacgt aactgcagat ctacggggtc ctggagcacc ctgaagactc	540
		aagacaaaaa gactgtcagg aaggcagagt gcagagcaat ccaactgtcca agaccacacg	600
		acttcgagaa cggggaatac tggccccggt ctccctacta caatgtgagt gatgagatct	660
		ctttccactg ctatgaagggt tacaactctcc ggggctctgc caatgcacc tgccaagtga	720

atggccgatg	gagtgggcag	acagcgatct	gtgacaacgg	agcgggggtac	tgctccaacc	780
cgggcatccc	catttggcaca	aggaagggtg	gcagccagta	ccgccttgaa	gacagcgtca	840
cctaccactg	cagccggggg	cttaccctgc	gtggctccca	gcggcgaacg	tgctcaggaag	900
gtggctcttg	gagcgggacg	gagccttcc	gccaaagactc	cttcatgtac	gacacccctc	960
aagaggtggc	cgaagctttc	ctgtcttccc	tgacagagac	catagaagga	gtcgatgctg	1020
aggatgggca	cggcccagg	gaacaacaga	agcgggaagat	cgtcctggac	ccttcaggct	1080
ccatgaacat	ctacctggtg	ctagatggat	cagacagcat	tggggccagc	aacttcacag	1140
gagccaaaaa	gtgtctagtc	aacttaattg	agaagggtggc	aagttatggt	gtgaagccaa	1200
gatatggtct	agtgacatat	gccacatacc	ccaaaatttg	ggtcaaagtg	tctgaagcag	1260
acagcagtaa	tgacagactg	gtcacgaagc	agctcaatga	aatcaattat	gaagaccaca	1320
agttgaagtc	agggactaac	accaagaagg	ccctccaggc	agtgtacagc	atgatgagct	1380
ggccagatga	cgtccctcct	gaaggctgga	accgcacccg	ccatgtcatc	atcctcatga	1440
ctgatggatt	gcacaacatg	ggcggggacc	caattactgt	cattgatgag	atccgggact	1500
tgctatacat	tggcaaggat	cgcaaaaacc	caaggaggga	ttatctggat	gtctatgtgt	1560
ttggggctcg	gcctttggtg	aaccaagtga	acatcaatgc	tttggcttcc	aagaaagaca	1620
atgagcaaca	tgtgttcaaa	gtcaaggata	tggaaaacct	ggaagatggt	ttctacaaaa	1680
tgatcgatga	aagccagtc	ctgagtcct	gtggcatggt	ttgggaacac	aggaagggtta	1740
ccgattacca	caagcaacca	tggcaggcca	agatctcagt	cattcgccct	tcaaagggac	1800
acgagagctg	tatgggggct	gtggtgtctg	agtactttgt	gctgacagca	gcacattgtt	1860
tcactgtgga	tgacaaggaa	cactcaatca	aggtcagcgt	aggaggggag	aagcgggacc	1920
tggagataga	agtagtccta	tttcacccca	actacaacat	taatgggaaa	aaagaagcag	1980
gaattcctga	attttatgac	tatgacgttg	ccctgatcaa	gctcaagaat	aagctgaaat	2040
atggccagac	tatcaggccc	atttgtctcc	cctgcaccga	gggaacaact	cgagctttga	2100
ggcttcctcc	aactaccact	tgccagcaac	aaaaggaaga	gctgctccct	gcacaggata	2160
tcaaagctct	gtttgtgtct	gaggaggaga	aaaagctgac	tcggaaggag	gtctacatca	2220
agaatgggga	taagaaaggc	agctgtgaga	gagatgctca	atatgcccc	ggctatgaca	2280
aagtcaagga	catctcagag	gtggtcaccc	ctcggttcct	ttgtactgga	ggagtgagtc	2340
cctatgctga	ccccaatact	tgacagagtg	attctggcgg	ccccttgata	gttcacaaga	2400
gaagtcgttt	cattcaagtt	ggtgtaatca	gctggggagt	agtggatgtc	tgcaaaaacc	2460
agaagcggca	aaagcaggta	cctgctcacg	cccagactt	tcacatcaac	ctctttcaag	2520
tgctgccttg	gctgaaggag	aaactccaag	atgaggattt	gggttttcta	taaggggttt	2580

	cctgctggac aggggcgtgg gattgaatta aaacagctgc gacaacaaaa aaaaaaaaaa	2640
	aaaaaa	2646
	<210> 2	
5	<211> 9001	
	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
10	<400> 2	
	ggaggtgagg gtctcagggt ggggatgctg ggatccccct gtgacagctc ccagaatgtc	60
	tctcttcctt ctccaggtct ggctgctttc tctctctgac gggggtcacc cctcctccca	120
	agcctcaciaa aactgctagg tgtccctggg tctgcttatt ctttttttgt tgttattgag	180
	atggagtctt gctctgtctc ccaggtctga gtgcagtggc acgacctcag ctcaactgcaa	240
	cttctgcctc ctgggttcaa gogattctcc tacttcagcc tcccgagtag ctgagattac	300
	aggtgcccac caccacacca gctaattttt gtatttttag tagagacggg atttcgocat	360
	gttggccagg atggtcttga actcctgacc tcaagtgatc tgctgcctc aacctcccaa	420
	agtgtctgaga ttacaggcgt gagccactgc acccaccogg gtctgcttat totacccttc	480
	tctctgggtc caccctgct gcagtggaca agctgtgccc aggttgtctc ccaagaaaaa	540
	accatgttcc ccaacttgac agatgtcagg gaggtggtga cagaccagtt cctatgcagt	600
	gggacccagg aggatgagag tccctgcaag ggtgagtccc tcaccatgcc tggattccca	660
	aggggaaggc cacctgtgtc tctgtggcca gcatgcatgc cagaacacca gtccactgcc	720
	ctagatgaca ctgtctctg tcaccctttg ctggcaggag aatctggggg agcagttttc	780
	cttgagcgga gattcaggtt ttttcaggtg agaaggtaga agcttgacagg acccaggggt	840
	tacaggatct cagccttgtt ggggggatga gggaggcctt tgagggatct agggaggttg	900
	gggcttacag ttggggctgt ggcagcctcc cagccagttc tctccttttc tccaggtggg	960
	tctggtgagc tggggctctt acaaccctg ccttggctct gctgacaaa actcccgcaa	1020
	aaggggccct cgtagcaagg tcccgccgcc acgagacttt cacatcaatc tcttcgcgat	1080
	gcagccctgg ctgaggcagc acctggggga tgtcctgaat tttttacccc tctagccatg	1140
	gccactgagc cctctgctgc cctgccagaa tctgcccgcc ctccatcttc taaccttgaa	1200
	tggccaccct tagaccctgt gatccatcct ctctcctagc tgagtaaatc cgggtctcta	1260
	ggatgccaga ggcagcgcac acaagctggg aaatcctcag ggctcctacc agcaggactg	1320
	cctcgttgcc ccacctcccg ctcccttgcc tgtccccaga ttccctccct ggttgacttg	1380
	actcatgctt gtttcacttt cacatggaat ttcccagtta tgaaattaat aaaaatcaat	1440

ggttttccaca	tototcagtg	cctctatctg	gaggccaggt	agggctggcc	ttgggggagg	1500
gggaggccag	aatgactcca	agagctacag	gaaggcaggt	cagagacccc	actggacaaa	1560
cagtggctgg	actctgcacc	ataacacaca	atcaacaggg	gagtgagctg	gaccccttatt	1620
tctgggtccct	aagtgggtgg	tttgggctta	ctgggggagga	gctaaggccg	gagaggaggt	1680
actgaagggg	agagtccctg	acctttggca	gcaaaggggtg	ggacttctgc	agtttctgtt	1740
tccttgactg	gcagctcagc	ggggccctcc	cgcttggatg	ttccgggaaa	gtgatgtggg	1800
taggacaggc	ggggcgagcc	gcaggtgcca	gaacacagat	tgtataaaaag	gctgggggct	1860
ggtggggagc	aggggaaggg	aatgtgacca	ggtctaggtc	tggagtttca	gcttggacac	1920
tgagccaagc	agacaagcaa	agcaagccag	gacacaccat	cctgccccag	gccagcttc	1980
tctcctgcct	tccaacgcca	tggggagcaa	tctcagcccc	caactctgcc	tgatgcccct	2040
tatcttgggc	ctcttgtctg	gaggtaagcg	agggtaacct	tcccttctctg	ctgtctccag	2100
catccctcct	tggccttttg	gggccaggtc	tcctcagcct	ttctcttcag	gtgtgaccac	2160
cactccatgg	tctttggccc	ggccccaggg	atcctgctct	ctggaggggg	tagagatcaa	2220
aggcggctcc	ttccgacttc	tccaagaggg	ccaggcactg	gagtacgtgt	gtccttctgg	2280
cttctaccog	taccctgtgc	agacacgtac	ctgcagatct	acggggctct	ggagcaccct	2340
gaagactcaa	gacaaaaaga	ctgtcaggaa	ggcagagtgc	agaggtttga	gggcaatgag	2400
tgtgggcagt	ggcctaaggc	agaaacaggg	caggcggcag	caaggtcagg	actaggatga	2460
gactaggcag	ggtgacaagg	tgggctgacc	gggagtagga	gcagttttag	ggtggcaggc	2520
ggaaaggggg	caagaaaaag	cggagttaac	ccttactaag	catttaacct	gggcttccag	2580
gcagccctgg	aagtcaagag	aacactcaga	aatggggagg	gagaagcagt	ggaaatccat	2640
atgggttgag	gagtaggtaa	gatgctgctt	ctgcgggact	gggaatgcgc	tgtttctcag	2700
tgacatggtc	tccgagacca	ggagggatac	acctaaggca	gcctttccct	cttgatgact	2760
tctacttgtc	cccccttctc	aaagcaatcc	actgtccaag	accacacgac	ttcgagaacg	2820
gggaatactg	gccccggtct	ccctactaca	atgtgagtga	tgagatctct	ttccactgct	2880
atgacggtta	cactctccgg	ggctctgcca	atcgacacctg	ccaagtgaat	ggccgatgga	2940
gtgggcagac	agcgatctgt	gacaacggag	gtgagaagca	tccctccccc	ctacattgct	3000
gtctccctga	cggcgcccag	cccgaggagt	gggcactcgg	ctccggacac	tgtaaactctt	3060
gctctctacc	ttgctcaccg	ggcctcaggc	ttcagtgcct	acctcgatgt	ctcataacctc	3120
tgcagcgggg	tactgctcca	accogggcct	ccccattggc	acaagggaagg	tgggcagcca	3180
gtaccgcctt	gaagacagcg	tcacctacca	ctgcagccgg	gggcttacct	tgcgtggctc	3240
ccagcggcga	acgtgtcagg	aagggtggctc	ttggagcggg	acggagccct	cctgccaaagg	3300
tgacctttga	cctgtacccc	caqgtcaqat	cctggtcttc	catcctactg	tcttctctcc	3360

ccacctcaac cctgctcttt cctcactttg tttaaacctc cctgtacaac tatctcactt	3420
ctgagccttt tataccctgg aaacccatga tccccgtct ctttggtcac tgtatccctg	3480
acactcccag acatttgacc tcattttctga ctctcccaga ctcttcatg tacgacaccc	3540
ctcaagaggt ggccgaagct ttctgtctt cctgacaga gaccatagaa ggagtcgatg	3600
ctgaggatgg gcacggccca ggtttgaaga cagagaaggg aggcagggca gggaaactggg	3660
ggaaaatgga gaagggacag aactgttaat gctggagcct gagccactct cctggcacc	3720
aggggaacaa cagaagcgga agatcgctt ggacccttca ggctccatga acatctacct	3780
ggtgctagat ggatcagaca gcattggggc cagcaacttc acaggagcca aaaagtgtct	3840
agtcaactta attgagaagg tggaatctc ctatccctga actcggggga atggaatctc	3900
gctgatcttc caggactagc tccctgatca ttccagcccc tctgaacaac agggccccag	3960
gaaaatctcc aggtcctatt ctgtcctct tcccttttac ttgaagcagt ttcttgactg	4020
gtaattcctc catgaacctc agcccttgag cctcttactg agagcctccc tgtcccagca	4080
aagtogctga aatctcccaa tcacagtatt ctattttcaa tgccatggcg ccttggtctc	4140
ctcaccacaa ggtggcaagt tatggtgtga agccaagata tggctctagt acatatgcca	4200
cataccccaa aatttgggtc aaagtgtctg aagcagacag cagtaatgca gactgggtca	4260
cgaagcagct caatgaaatc aattatgaag gtcagagggt agggaatggg gggagggtca	4320
ctttggggtc aggagggtca ggggtggaggg ggtcatgaga ctaccttgag ggcgacaggg	4380
aggaccactt tgtagtcaaa agttgaacag caggatcgtt gggcaatgga ggttagtggg	4440
aacctgttgg gggctggaag ggccactttg tggtaaaagg gaagtccgtg taatgatgat	4500
taacttaaaa agttgaaaga tgtgggattt cagttgcaga ttggtctctg gggttaaaag	4560
atggcttgga agaccaggtg aggtgatggt ctcttccctc tcacagacc acaagttgaa	4620
gtcagggact aacaccaaga aggcctcca ggcagtgtac agcatgatga gctggccaga	4680
tgacgtccct cctgaaggct ggaacggcac ccgccatgtc atcatcctca tgactgatgg	4740
tcagaaggga cctctctctt gtcccagcct cccacacctc tcagaccagc atgtggccct	4800
taagtcact tgtaacacta taccatggg tggggccctg aatgtgactc atagctggct	4860
gttcatctct cctgtgacc ttcataagga attcttcta agccctgtga tcaactatct	4920
ctaacccttc ctcaacttgc tcaccctgcc atgtgtatcc ctgcctttag ccagtttctc	4980
ttccttatct cctaccctca tggctcctgtc tcttctgcag gattgcacaa catggggggg	5040
gaccaatta ctgtcattga tgagatccgg gacttgctat acattggcaa ggatcgcaaa	5100
aaccaagggg aggttatct ggggtgagtaa cctgcctagg acccagcacc ccacttctc	5160
agggcttqga cctcatctt tcccttttat cctcagatg tctatctct tgggctcggg	5220

cctttggtga accaagtga catcaatgct ttggcttcca agaaagacaa tgagcaacat	5280
gtgttcaaag tcaaggatat ggaaaacctg gaagatgttt tctaccaa at gatcggtagg	5340
gagatacaag ggaataaaga acacaactct cctcaggttc ccctgaagta attcattctt	5400
cctctacacc tgaagctota gttgcctgga aagccttctt cattcctcct tctctacctc	5460
agtgtcacta ttcttgtttc ctggcactgt tcacttaacc ttagaatcac agagctctga	5520
gcacttcaga gatctttcta tagtcttaca ttgacacgt ggaaacagaa gccaaaggag	5580
gtcaagggac agcaagttag caacaagggt gggcttgaaa acagccaggc ctctgacagc	5640
ttgatcccaa gttctttccc ttttcagtcc accatagcag tttctctcta acacgaggaa	5700
acaaatacco gtggtctttc cctttctcct ttgggcctt tgctcccat agactcctac	5760
ccaaaaggct gctgccattt gggaatgaag tggtccgagt tttcagcaca ttctccttct	5820
ctgccagatg aaagccagtc tctgagtcct tgtggcatgg tttgggaaca caggaagggt	5880
accgattacc acaagcaacc atggcaggcc aagatctcag tcattgtaag cacagaatcc	5940
cagtagtggg gacttggggg aggtgaggtc aagggtgaaat gggagtaggg gaaggaaaaa	6000
atggccataa gagatggtgg tttgtgaaag ttgagctttc cctctctact gttgtgtccc	6060
cagcgccctt caaagggaca cgagagctgt atgggggctg tgggtgtctga gtactttgtg	6120
ctgacagcag cacattgttt cactgtggat gacaaggaac actcaatcaa ggtcagcgt	6180
ggtaaggatg caactgaagg tcttgggctg cacctatgct ctccaggcaa cacctccac	6240
tttctacaga tcttacctc caccatcct caatgcagcc ccattccttg cccccagac	6300
cagtcaggga tgggggaaga cgtgaagtta ggaatgacac ggggccagag gcaggaaagt	6360
gccacaaaag aggtggtacc tactctccta cttcaggagg ggagaagcgg gacctggaga	6420
tagaagtagt cctattttcac cccaactaca acattaatgg gaaaaagaa gcaggaaattc	6480
ctgaatttta tgactatgac gttgccctga tcaagctcaa gaataagctg aaatatggcc	6540
agactatcag gtgagagcgt ccagatccct gaggaaaggc tgggaaaggc tggaggactg	6600
gggtgaggag caggcctggt ttgctgttct ccttgtcctt tataggcca tttgtctccc	6660
ctgcaccgag ggaacaactc gagctttgag gcttcctcca actaccactt gccagcaaca	6720
aagtaagaca tacttggcaa gaggataagg atgagatccc aagagacaag tggggcatga	6780
gagggagggt caataggaag agatgatgcc tggcccagaa cctagctcta gaagggtta	6840
ggggacatct actgagtgac aaaggcaatg gggagatgac agtgggtggga gcagctgaag	6900
tgacgcagtc tattcgtcca gaggaagagc tgcctcctgc acaggatatc aaagctctgt	6960
ttgtgtctga ggaggagaaa aagctgactc ggaaggaggt ctacatcaag aatggggata	7020
aggtgagaaa cgggcatcct aaggaggcac tctaggcccc aatccttctt aagccacttc	7080
tgttcattac ttctccatgc tccccacctc cctacagaa aggcagctgt gagagagatg	7140



ctcaatatgc	cccaggctat	gacaaagtca	aggacatctc	agaggtggtc	acccctcggt	7200
tcctttgtac	tggaggagtg	agtccttatg	ctgaccccaa	tacttgacaga	ggtgagagaa	7260
tgctcttttg	ttgtgctaca	agtgcccaag	gcccacacgt	ccttttctct	acagcttctc	7320
ctctccttgc	aggtgattct	ggcgccccct	tgatagtcca	caagagaagt	cgtttcattc	7380
aagtgagtc	tccttttct	atctggggag	atgccaaagt	gtcagcatgg	gccccaaagc	7440
aggaaagctc	aatgcatgtg	gctagtaatt	cgaggtaggc	agagcctgcc	tcaccttagg	7500
accgcatgtc	ttgcctgcgt	gtgtcaagaa	cgaggctgag	ctgggtccct	agtctgattc	7560
ctttaggtca	gctaagacac	aagcaggaac	agccatgctt	ccaggattag	gaattctact	7620
gaatgatcca	tggcaccoca	ctgcctctgc	aggttggtgt	aatcagctgg	ggagttagtg	7680
atgtctgcaa	aaaccagaag	cgccaaaagc	aggtacctgc	tcacgcccga	gactttcaca	7740
tcaacctctt	tcaagtgtg	ccctggctga	aggagaaact	ccaagatgag	gattttgggt	7800
ttctataagg	ggttttctgc	tggacagggg	cgtgggattg	aattaaaaca	gctgcgacaa	7860
cacctgtgtt	ccagatcctt	ttggggcaag	ggagtgggga	acaggcactg	gccatgttgt	7920
tacactgaga	tcaaacctga	cagccgtttt	taaaggttta	accccaatcc	caagtgtgta	7980
aaaaccagag	gctgagggag	atgtgtaagc	ttccacctca	gtgttttact	gagaccagca	8040
ttggggcata	tgaggcacaa	ggaatccagc	tctgttccct	agaagccatc	cacaaggttt	8100
tccttgtaga	cgtcatcact	gtagacaatc	tgggtcctct	tgtcccggtg	gcaaccctta	8160
gggctgttct	ggacagctag	ggagggagga	gaggaacagt	taagggtotaa	aggagatcat	8220
agaacagacc	ctgaggctga	ctcctgacca	cctcactcct	ggccactggc	ccctggaagc	8280
ccagtttcca	cgctgccctc	tgggtggccag	gatggcctgt	cttccttagc	tcctttgtgc	8340
caaccatgg	ccaagaaaag	tataagtgga	cattttgatg	aatgttttgt	tcttagaaaa	8400
atcccaaagt	tcattgttga	gacaogtgaa	tgatattaac	ccactactta	cagtcagtat	8460
gtcagaagct	aaaaactaga	aaacctctgt	agcccttttt	tgacatgctg	gtcaattcta	8520
gttcctttct	tttgctgaa	gggccaactgt	agctgagccc	ttctttctgc	tcactccttt	8580
cccaggaaaa	tctactttca	gggaaaatgg	attattcaca	ctaagaaatg	ctactagctc	8640
caccagaact	cattcagggg	gtagcttttg	ccctcaccat	tctctctcaa	gcctctagct	8700
gtttcttccc	cttcctcttt	cctccctcca	ccagacatgt	tactctcttc	accccatcca	8760
atggttccat	ccccaccacc	cttgagctac	agagaatctc	tctcaccac	tcccatcctg	8820
tgatctctgt	gootcaacac	tgttggttac	tcctcttttc	tcaaagtgtg	tgtccttttg	8880
cttcagtggc	ccaggcccc	gggtgctgc	tcccagccct	ccgacccctc	ctcctgtctc	8940
ctttgctaac	gttaggctca	acgttagcct	aacatgtcag	gacagctggg	gacatgtggg	9000
g						9001

	<210>	3																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																		
--	-------	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--



ggtaggacag gcggggcaag ctgcagggtgc cagaacacag attgcataaa aggccggggag	1680
ctggtggggg gcaggggaag ggaatgtgac caggtctagg totggagttt cagcttggac	1740
actgagctaa gtagacaagc aaaacaagcc aggacacgcc atoctgcccc aggccagct	1800
tctctectgc cttctaagc catggggagc agtctcagcc cccagctcta cctgatgccc	1860
ttcatcttgg gcctcttata tggaggtaag tgagggtaac cttcccttcc tgcgtgcccc	1920
agcatccctc cttggccttt tggggccagg ctcatcagc ctttctcttc aggtgtgacc	1980
accactccat tgtcttcggc ccagcctcaa ggatcctgct ctctggaggg ggtagagatc	2040
aaaggtggct ccttcogact totccaagag gcccaggcac tgggaatacgt gtgtccttct	2100
ggcttctacc cgtaccctgt gcagacacgt acctgcagat ccacgggggc ctggagcacc	2160
ctgcagactc aagatcgaaa aactgtcaag aaggcagagt gcagaggttt gagggcaatg	2220
agtgtgggca gtggcctaag ggagaaacag ggcagatggc agcaagggtca ggactaggat	2280
gagactaggc aggggtgacaa ggtgggctga ccaggagtag gagcagtttt agggttgtag	2340
agggaaagga agggaaaaaa aaaggggagt taacctttag taagcattta ccctgggctt	2400
ccacgcagcc ctggaagtca agagaacact cagcaatggg gagggaggag cagcggaaac	2460
ccctatgggt tgaagggtag gtaagatgca gcttctgcag gactgggaat gctctgttcc	2520
tcagtgcctt ggtctctgag accaggaggg aaacacctaa ggcagccttt ccctcttaat	2580
gacttctact tctccctctt totcaaagca atccgctgtc caccaccaca ggacttcgag	2640
aacggggaat accggccccc gtctccctac tacaatgtga gtgatgagat ctctttccac	2700
tgctatgacg gttacactct cgggggctct gccaatcgca cctgccaaagt gaatggccgg	2760
tggagtgggc agacagcgat ctgtgacaac ggagggtgaga agcatcctct cccccacat	2820
tgctgtctcc ctgacagcgc ctagcctgag gagtgggcat ttgccccggg aactgtaac	2880
tcttgcctc taccttgccc tggggcctc aggcctcagc gcttacctcc atgtctcatg	2940
cctctgcagc ggggtactgc tccaaccag gcaccccat tggcacaagg aagggtgggca	3000
gccggtaccg ccttgaagac agcgtcacct accactgcag ccgggggctt accctgcgtg	3060
gctcccagcg gcgaacatgt caggaagggtg gctcttggag cgggacggag ccttcctgcc	3120
aagggtgacc ttgacctgta cccccaggtc agatcctgat cttgcatcct actgtcttct	3180
ctccccacct caacctgct ctttctcac ttcttttaaa ccttcctcta gaactgtctc	3240
acttctgagc cttttctacc ctggaaaccc acaatcccct gtctcttttg tcaactgtgtc	3300
cctgacactc ccagacattt gacctcattt ctgactctcc cagactcctt catgtacgac	3360
acctctcaag aggtggcoga agctttcctg tottccctga cggagaccat agaaggagtc	3420
gatgccgagg atgggcacag ccaggtttg aaggcagaga ggggaggcaa ggcagggaac	3480
tgggggaaaa tggagaaggg acaagataat cgttcatgct ggagcctgag tcaactctct	3540

ggcaccagg	ggaacaacag	aagcggagga	tcacccatga	cccttcaggc	tccatgaaca	3600
tctacctggt	gctagatgga	tcagacagca	ttggggcccg	caacttcaca	ggagccaaaa	3660
agtgtctagt	caacttaatt	gagaagggtg	agtcctccta	tccctgaact	tgggggaatg	3720
gaatcttgct	gatcttccag	gactagctcc	ctgatcattc	cagccccctc	gaaccgcagg	3780
gccccaggaa	agtctccagg	tcctattctg	tcctccttcc	cttgtaactg	attcctccat	3840
gaacctgtgc	ttgagcctct	tcctaagagc	ctccctgtcc	cagcaacggt	gctgaagtct	3900
cccaatcaca	gtattctact	ttcaatgcca	tggcgccctg	ttctcctcac	ccacagggtg	3960
caagttatgg	tgtgaagcca	agatatgctc	tagtgacata	tgccacatac	cccagaattt	4020
gggtcaaagt	gtctgaccaa	gagagcagca	atgcagactg	ggtcacgaag	aagctcagtg	4080
aatcaatta	tgaaggctcag	aggttagggg	atggtgggag	gttcactttg	gggtcaggag	4140
gttcaggagt	gttgtgtgga	gggggtcatg	agactacott	gagggcaaca	gggggaccac	4200
tttgtagtca	aagggtgaac	agcaggatca	ttgggcaatg	gaggttagtg	ggaacctgct	4260
gagggctgga	agggccactt	tgtggtcaaa	gggaagtcca	tatgatgatt	aacttaaaaa	4320
gttgaagatg	tgagatttca	gttgcagatt	ggtctctggg	gttaaaagat	ggcttggaag	4380
accagggtgag	gcgatgctct	cttccctccc	cacagaccac	aagttgaagt	cagggactaa	4440
caccaagagg	gccctccagg	cagtgtacag	catgatgagt	tggccagagg	acatccctcc	4500
tgaaggctgg	aacgcacccc	gccatgtcat	catcctcatg	accgatggtc	agaagggacc	4560
tctctcctgt	cccagcctcc	ccacottctc	agaccagcat	gtggccotta	agtccacttg	4620
taacactata	cccatgggtg	gggcccgtga	tgtgactcgt	aactggctgt	tcctctctcc	4680
tgtgaccott	cataaagaat	tattcctaaa	gccctgtgat	caactacctc	taacccttcc	4740
tcaacttact	caccctgcca	cgtgtatcac	tgccctctagc	caatttatct	tatctcctac	4800
cctcatggtc	ccgtctcttc	tgcaggattg	cacaacatgg	gcgggggacc	aattactgtc	4860
attgatgaga	tcggggactt	gttatacatc	ggcaaggatc	gtaaaaaccc	gagggaggat	4920
tatctgggtg	agtaacctgc	ctaggaccca	gcaccctact	tcctcagggc	ttggaccgtc	4980
atccttccct	tttctccctc	agatgtctat	gtgtttgggg	ttggaccttt	ggtggaccaa	5040
gtgaacatca	atgctttggc	ttccaagaaa	gacaatgagc	aacatgtgtt	caaagtcaag	5100
gatatggaaa	acctggaaga	cgttttcttc	caaagtattg	gtaggcagac	acaagggaat	5160
caagaacgca	actctcctca	gcttccctcg	aaataattca	ttcttccctc	acccctgaag	5220
ctctagttgc	ctggaaagcc	ttcttcattc	ctcctctctc	acctcagtat	cactattctt	5280
gtttcctggc	actgtttgct	tcttaacctt	agaatcacag	agctctaggc	acttcagaga	5340
tctttctatt	gtcctacatt	tgacacatgt	ggaaacaaaag	gccaaaggag	gtcaaggggc	5400
agcaagctag	caacaggggt	gggcttgaaa	acagccaggc	ctctgatagc	ttgatcccaa	5460

gttcttttccc	ttttcaactcc	accacagcag	ttttctccta	acacgaggaa	acaaatacct	5520
gtggccctttc	cctttctctct	tttgggcctc	tgccccccac	agacttctac	ccaaaggctg	5580
ctgccgtttg	ggaatgaagt	gttccaagtt	ttcagcacat	tctccttctc	tgccagatga	5640
aagccagtct	ctgagtctct	gtggcatggt	ttgggaacac	agcaagggtg	ccgattacca	5700
caagcaacca	tggcaggcca	agatctcagt	cactgtaagc	acagaatccc	agtagtgagg	5760
acttggggga	ggtgaggtca	aggtgaaatg	ggagtagggg	aagggcacaa	tggccgtaag	5820
agatggtggt	ttgtgaaagt	tgagttttcc	ctttctactg	ttctgttccc	agcgccttcc	5880
gaagggacat	gagagctgta	tgggggctgt	ggtgtctgag	tactttgtgc	tgacagcagc	5940
acattgtttt	actgtggacg	acaaggaaca	ctcaatcaag	gtcagcgtgg	gtaaggatgc	6000
aactgaagg	ccggggtgc	acctacgccc	tccaggcaac	acctccact	ttctacagat	6060
cccacactcc	actcatctgc	aatgcagccc	catcccttgc	accccagacc	agtcagggat	6120
ggggaagact	tgaagttagg	aatgacatgg	ggccagaggc	aagaagctgc	ccacaaagag	6180
gtggtacct	ttctcctact	tcaagggaag	aagcgggacc	tggagataga	aaaagtccca	6240
tttcaccccg	actacaacat	tagcgagaaa	aaagaagcag	gaattcctga	attttatgac	6300
tatgacgttg	ccctgatcaa	gctcaagaat	aagttgaatt	atgacccgac	tatcaggtga	6360
gagcatccag	atccctgagg	aaaggctggg	aaaggctgga	ggactggggg	gaggagcagg	6420
cctagtttgc	tgttctttct	ccatccctta	taggcccatt	tgtctccctc	gcaccgaggg	6480
aacaactcga	gctttgaggc	ttcctccaac	taccacttgc	cagcaacaga	gtaagacata	6540
ctagggggga	ggataaggat	gagatcccga	gacaagttag	gcatgagagg	gagatgcaat	6600
aggaagagac	gatgcctggc	ccagaacctc	gcactaggaa	gggcttaggg	gacatctgct	6660
gagtgcacaa	gtcaataggg	agatgacagt	ggtgggagca	gctgaagtga	tgcatcttat	6720
ttgtccagag	gaagagctgc	tccctgcaca	ggatatcaaa	gctctgtttg	tgtctgagga	6780
ggagaagaag	ctgactcgga	aggaggtcta	catcaagaat	ggggataagg	tgagaaatgg	6840
gcacctaag	gaggcaactc	aggcccta	ccttcccta	ccacctctgt	tcattacctt	6900
tctccatgct	tcccacctcc	cctacagaaa	ggcagctgtg	agagagatgc	tcaatatgcc	6960
ccaggctatg	acaaagtcaa	ggacatctcg	gagggtggta	ccctcggtt	cctttgtact	7020
ggaggagtga	gtccctatgc	tgaccccaat	acttgacag	gtgagagaac	gctctctggt	7080
tgtgctccaa	gtgcccagag	gccaagagtc	cttttcccta	cagcttctcc	tctccttgca	7140
ggtgattctg	ggggccctt	gatagttcac	aagagaagtc	gtttcattca	agtgagtcct	7200
ccctttccta	tctggggaga	tgccaagtgg	tcagcatggg	ccccaaagca	ggaaagcaca	7260
atgcatgtgg	ctagtaattc	gagggtggga	gagcctgcct	cacttttagga	ctgcatgtct	7320
ggcctgtgtg	tgtcaagaat	gaggctgagc	tgggtcccta	gctgattccc	tttaggtcag	7380

ctaagacaca atcaggaaca gtcattgcttc caggattagg aattctatga atgatccatg 7440  
 gcaccccact gcctctgcag gttggtgtca tcagctgggg agtagtggat gtctgcaaaa 7500  
 accagaagcg gcaaaagcag gtacctgtct acgcccgaga ctttcacgtc aacctcttcc 7560  
 aagtgtctgc ctgggtgaag gagaaactcc aagatgagga tttgggtttt ctctaagggg 7620  
 tttcctgtct gacagggggc cgggattgaa ttaaaacagc tgcgacaaca cttgtgttcc 7680  
 agatcctttt ggggcaaggg agtggggaac gggcactggc catgttgta cactgagatc 7740  
 aaacctgaca cccattttta aaggcttaac cccaatccca agtgctgaaa aaccagaggc 7800  
 tgagggagat atgtaagctt ccacotcagt gttttactga gaccagcatt ggggcatttg 7860  
 aggcacaagg aatccagctc tgttccttag aagccatcca caaggttttc cttgtagacg 7920  
 tcactactgt agacaatctg ggtcctcttg tcccggtggc aacccttagg gctgttctgg 7980  
 acagctaggg agggaggaga ggaacagtta aggtctaaag gagatcatag atcagaccct 8040  
 gaggtgact cctgaccacc tcagtcctgg ctgctggccc ctggaaaacc agtttccacg 8100  
 ctgccctctg gtggccagga tggcctgtct tccttagctc ctttgtgcca acccatggcc 8160  
 aaggagagtg taagtggaca ttttgatgaa tgttttgttc ttagaaaaat cccaaatgtc 8220  
 attgttgaga tatatgaatg atattaaccc actacttata gtcagtatgt cagaagctaa 8280  
 aaactagaaa acctctgtag ccctttattg acatgctggc caactctagt tcctttcttt 8340  
 tgctgaaag gccactgttg ctctgagtc ttctttctgc tcaactcctt ccaggaaaa 8400  
 tctactttca ggtaaatggg ttactcatac taaggaatgc tactagctcc accagaactc 8460  
 atccagcatg tagctttggc cctcaccatt ctctctcaag cctctagctg tttcttcccc 8520  
 ttcctctttt cctccctcca ccagacatgt tactctcttc acccatcca aagattccat 8580  
 cccaccacc cttgacctag agagaatctc tcccaccac ttctcatcct gtgatctctg 8640  
 taccttgaca ctgctggcta ctccctcttt ctcaaagcat gtgtcctttc gcttcagtgg 8700  
 ccaggcccc tctggtgctg ctcccagccc tctgaccct cctcctgtct cctttgctaa 8760  
 cgttaggctc aacgttagcc taacgtgtca ggagagctgg agacacgtgg ggcgtaaggc 8820  
 ggacagtcct gtttcctaac atagtccctg agtatctctc aagtctagtc ctgggtcgtt 8880  
 tttttctctc gaaatcagtc tccctcatga tcggggagcc accctgtgat gcagatgact 8940  
 taatctatgt tttcattcct tacctcacac ctgagttcca gaccctaat ttcaaatact 9000  
 t 9001

<210> 4

<211> 4086

<212> ADN

<213> Macaca mulatta

&lt;400&gt; 4

atagatatat tagcatcagg gagacagggc aaaggttcca cccttcagct cagtccccag	60
tccctgctta ttatttccct aacagaagac catccccctt gccactccct gggttttctt	120
ctctggcagc aatgaagcag ctgctgagcc agctctgggt ttcggaagt cagatgacct	180
tttccctccc gcggctctct gectctcgct gtccctaggg aggacaccat ggaccactg	240
atgggtcttt ttgctgct gtctctgtac ccagggtccgg cagactcggc tacctcctgc	300
cctcagaacg tgaatatctc tgggtggcacc ttaccctca gccatggctg ggccccctggg	360
agccttctca tctactcctg tccccagggc ctgtacctat cccagcgtc acggctgtgc	420
aagagcagcg gacagtggca gacccaaga gccaccgggt ctctgactaa ggcggtctgc	480
aaacctggcc actgccccaa ccccgccatt tcgtctggcg cgggtcggac aggtccccgc	540
tttgggtcatg gggacaaggc ccgtatctgc tgctcctcga atcttggtct cacggggtct	600
gcggagcggg agtgccaggg caacggggtc tggagtggaa cggagcccat ctgccgccag	660
ccctactctt atgacttccc tgaggacgtg gcccttggcc tgggcaacct cttctccac	720
atgcttgggg ccaccaatcc caccagagg acaaggatc atgaaaatgg aactgggact	780
aacacctatg cagccctaaa cagtgtctat ctcatgatga acaatcaaat gcaactcctt	840
ggcatgaaaa cgatggcctg gcaggaaatc cgacatgcca tcatccttct gacagatgga	900
aagtccaata tgggtggctc tcccaaaaca gctgttgacc aaatcagaga gatcttgaat	960
atcaaccaga agaggaatga ctatctggac atctatgcca tcgggggtggg caagctggat	1020
gtggactgga gagaactgaa tgagctgggg tccaagaagg atggcgagag gcatgccttc	1080
attctgcagg acacaaaggc totgcaccag gtctttgaac atatgctgga tgtctccaag	1140
ctcacagaca ccatctgcgg ggtggggaac atgtcagcaa acgcctctga ccaagagagg	1200
acaccctggc atgtcactat taagcccaag agccaagaga cctgccgggg agccctcatc	1260
tccgaccaat gggctcctgac agcggtcac tgottcgcg atggcaacga ccactcccta	1320
tggaggggtca atgtgggaga ccccaaatcc cagtggggca aagaattcct tattgagaag	1380
gcagtgattt cccaggtatt tgatgtcttt gccaaaaaga accagggaat cctggagttc	1440
tatgggtgatg acatcgccct gctgaagctg gccagaaaag taaagatgtc caccatgcc	1500
aggcccatct gccttccctg caccatggag gccaatctgg ctctgcggag acctcaaggc	1560
agcacctgta gggaccatga gaatgaactg ctgaacaaac agagtgttcc tgctcatttt	1620
gtgccttga atgggagcaa actgaacatt aacottaaga tgggagtgga gtggacaagc	1680
tgtgccgagg tcgtctccca agaaaaaac atgttcccca acttgacaga tgtcaggag	1740
gtggtgacag accagtttct atgcagtggg acccaggagg atgagagtcc ctgcaagggt	1800



gtgaccacca	ctccattgtc	ttcgggcccag	cctcaaggat	cctgctctct	ggagggggta	1860
gagatcaaag	gtggctcctt	ccgacttctc	caagagggcc	aggcactgga	atacgtgtgt	1920
ccttctggct	tctaccogta	ccctgtgcag	acacgtacct	gcagatccac	ggggctcctgg	1980
agcacccctgc	agactcaaga	tcgaaaaact	gtcaagaagg	cagagtgcag	agcaatccgc	2040
tgtccacgac	cacaggactt	cgagaacggg	gaataccggc	cccggctctcc	ctactacaat	2100
gtgagtgatg	agatctcttt	ccactgctat	gacggttaca	ctctccgggg	ctctgccaat	2160
cgcacctgcc	aagtgaatgg	ccgggtggagt	gggcagacag	cgatctgtga	caacggagcg	2220
gggtactgct	ccaacccagg	catccccatt	ggcacaagga	agggtgggcag	ccggtaaccgc	2280
cttgaagaca	gggtcaacta	ccactgcagc	cggggggotta	ccctgcgtgg	ctcccagcgg	2340
cgaacatgtc	aggaaggtgg	ctcttggagc	gggacgggagc	cttcctgcca	agactccttc	2400
atgtacgaca	cccctcaaga	ggtggccgaa	gctttcctgt	cttccctgac	ggagaccata	2460
gaaggagtcg	atgccgagga	tgggcacagc	ccaggggaac	aacagaagcg	gaggatcatc	2520
ctagaccctt	caggctccat	gaacatctac	ctgggtgctag	atggatcaga	cagcattggg	2580
gccggcaact	tcacaggagc	caaaaagtgt	ctagtcaact	taattgagaa	ggtggcaagt	2640
tatgggtgtga	agccaagata	tgtcttagtg	acatatgcca	cataccccag	aatttgggtc	2700
aaagtgtctg	accaagagag	cagcaatgca	gactgggtca	cgaagaagct	cagtgaaatc	2760
aattatgaag	accacaagtt	gaagtccagg	actaacacca	agagggccct	ccaggcagtg	2820
tacagcatga	tgagttggcc	agaggacatc	cctcctgaag	gctggaaccg	caccgcctat	2880
gtcatcatcc	tcatgaccga	tggattgcac	aacatgggcg	gggacccaat	tactgtcatt	2940
gatgagatcc	gggacttggt	atacatcggc	aaggatcgta	aaaacccgag	ggaggattat	3000
ctggatgtct	atgtgttttg	ggttggacct	ttggtggacc	aagtgaacat	caatgctttg	3060
gcttccaaga	aagacaatga	gcaacatgtg	ttcaaagtca	aggatatgga	aaacctggaa	3120
gacgttttct	tccaaatgat	tgatgaaagc	cagtctctga	gtctctgtgg	catggtttgg	3180
gaacacagca	agggtaccga	ttaccacaag	caaccatggc	aggccaagat	ctcagtcact	3240
cgcccttcga	agggacatga	gagctgtatg	ggggctgtgg	tgtctgagta	ctttgtgctg	3300
acagcagcac	attgtttttac	tgtggacgac	aagggaacact	caatcaagggt	cagcgtggga	3360
gggaagaagc	gggacctgga	gatagaaaaa	gtcctatttc	accccgacta	caacattagc	3420
gagaaaaaag	aagcaggaat	tcctgaattt	tatgactatg	acgttgccct	gatcaagctc	3480
aagaataagt	tgaattatga	cccgactatc	aggcccatth	gtctcccttg	caccgagggg	3540
acaactcgag	ctttgaggct	tcctccaact	accacttgcc	agcaacagaa	ggaagagctg	3600
ctccctgcac	aggatatcaa	agctctgttt	gtgtctgagg	aggagaagaa	gctgactcgg	3660

aaggaggtct acatcaagaa tggggataag aaaggcagct gtgagagaga tgctcaatat 3720  
 gcccagggt atgacaaagt caaggacatc tgggaggtgg tcacccctcg gttcctttgt 3780  
 actggaggag tgagtcctta tgctgacccc aatacttgca gaggtgattc tggcggcccc 3840  
 ttgatagttc acaagagaag tcgtttcatt caagttggtg tcatcagctg gggagtagtg 3900  
 gatgtctgca aaaaccagaa ggggcaaaag caggtacctg ctacgcccg agactttcac 3960  
 gtcaacctct tccaagtgtt gccctggctg aaggagaaac tccaagatga ggatttgggt 4020  
 tttctctaag gggtttcctg ctggacaggg gcgcgggatt gaattaaaac agctgcgaca 4080  
 acactt 4086

<210> 5

5 <211> 2767

<212> ADN

<213> Mus musculus

10 <400> 5

gctccatcac acagtccatg gaaagactga tcttttaaata tgggggtagt ggaggtggtg 60  
 gtctgtgctt gttaggaggg gtctgggggc taagagggag ctttgaaagg gaagttctgg 120  
 cccttggtca gtcaaggggtg gggctcacat agtttctgtt tcctcagttg gcagttcagc 180  
 tggggccctc cttoatgaat gttccgggaa gcagtggctg cgtgcgcagg gtaggctggc 240  
 caggctgcag atgccagagc agattgcata aaaggtagg ggacagtggg aaaggggtgt 300  
 agccagatcc agcatttggg ttccagtttg gacaggaggt caaataggca cccagagtga 360  
 cctggagagg gctttgggoc actggactct ctgggtgctt ccatgacaat ggagagcccc 420  
 cagctctgcc tcgtcctctt ggtcttaggc ttctcctctg gaggtgtgag cgcaactcca 480  
 gtgcttgagg cccggcccca agtctcctgc tctctggagg gagtagagat caaaggcggc 540  
 tcctttcaac ttctccaagg cggtcaggcc ctggagtacc tatgtccctc tggcttctac 600  
 ccataccccg tgcagaactg aaactgcaga tccacaggct cctggagcga cctgcagacc 660  
 cgagaccaa agattgtcca gaaggcggaa tgcagagcaa tacgctgcc acgaccgag 720  
 gactttgaaa atggggaatt ctggcccccg tccccctct acaacctgag tgaccagatt 780  
 tcttttcaat gctatgatgg ttacgttctc cggggctctg ctaatcgcac ctgccaagag 840  
 aatggccggg gggatgggca aacagcaatt tgtgatgatg gagctggata ctgtcccaat 900  
 cccggtattc ctattgggac aaggaaggtg ggtagccaat accgccttga agacattgtt 960  
 acttaccact gcagccgggg acttgtcctg cgtggctccc agaagcgaaa gtgtcaagaa 1020  
 ggtggctcat ggagtgggac agagccttcc tgccaagatt ccttcatgta tgacagccct 1080

caagaagtgg ccgaagcatt cctatcctcc ctgacagaga ccacggaagg agccgatgct	1140
gaggatgggc acagcccagg agaacagcag aagaggaaga ttgtcctaga cccctcgggc	1200
tccatgaata tctacctggt gctagatgga tcagacagca tcggaagcag caacttcaca	1260
ggggctaagc ggtgcctcac caacttgatt gagaaggtgg cgagttacgg ggtgaggcca	1320
cgatatggtc tctgacata tgctacagtc cccaaagtgt tggtcagagt gtctgatgag	1380
aggagtagcg atgccgactg ggtcacagag aagctcaacc aaatcagtta tgaagaccac	1440
aagctgaagt cagggaccaa caccaagagg gctctccagg ctgtgtatag catgatgagc	1500
tgggcagggg atgccccgcc tgaaggctgg aatagaaccc gccatgtcat catcattatg	1560
actgatggct tgcacaacat ggggtggaac cctgtcactg tcattcagga catccgagcc	1620
ttgctggaca tcggcagggg tccccaaaat ccagggagg attacctgga tgtgtatgtg	1680
tttggggctg ggccctctgt ggaactccgtg aacatcaatg ccttagcttc caaaaaggac	1740
aatgagcatc atgtgtttta agtcaaggat atggaagacc tggagaatgt tttctaccaa	1800
atgattgatg aaaccaaata tctgagcttc tgtggcatgg tgtgggagca taaaaaaggc	1860
aacgattatc ataagcaacc atggcaagcc aagatctcag tcaactcgccc totgaaagga	1920
catgagacct gtatgggggc cgtggtgtct gagtacttcg tgctgacagc agcgcactgc	1980
ttcatgggtg atgatcagaa acattccatc aaggctcagc tgggggggtca gaggcgggac	2040
ctggagattg aagaggctct gtccaccccc aaatacaata ttaatgggaa aaaggcagaa	2100
gggatccctg agttctatga ttatgatgtg gccctagtca agctcaagaa caagctcaag	2160
tatggccaga ctctcaggcc catctgtctc ccctgcacgg agggaaccac acgagccttg	2220
aggcttcctc agacagccac ctgcaagcag cacaaggaac agttgctccc tgtgaaggat	2280
gtcaaagctc tgtttgtatc tgagcaaggg aagagcctga ctcggaagga ggtgtacatc	2340
aagaatgggg acaagaaagc cagttgtgag agagatgcta caaaggccca aggctatgag	2400
aaggctcaaag atgcctctga ggtggtcact ccacggttcc totgcacagg aggggtggat	2460
ccctatgctg accccaacac atgcaaagga gattccgggg gccctctcat tgttcacaag	2520
agaagccgct tcattcaagt tgggtgtgatt agctggggag tagtagatgt ctgcagagac	2580
cagaggcggc aacagctggt accctottat gcccgggact tccacatcaa cctottccag	2640
gtgctgccct ggctaaagga caagctcaaa gatgaggatt tgggttttct ataaagagct	2700
tcctgcaggg agagtgtgag gacagattaa agcagttaca ataacaaaaa aaaaaaaaaa	2760
aaaaaaaa	2767

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; ADN



	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	6	
10	<b>gctgagctgc cagtcaagga</b>		20
	<210>	7	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	7	
25	<b>ggccccgctg agctgccagt</b>		20
	<210>	8	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	8	
	<b>cggaacatcc aagcgggagg</b>		20
	<210>	9	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	9	
	<b>ctttcccgga acatccaagc</b>		20
60	<210>	10	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
65			

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	10	
		<b>atctgtgttc tggcacctgc</b>	20
10	<210>	11	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	11	
		<b>gtcacattcc cttcccctgc</b>	20
25	<210>	12	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	12	
40		<b>gacctggtca cattcccttc</b>	20
	<210>	13	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	13	
		<b>gacctagacc tggtcacatt</b>	20
	<210>	14	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	14	
	<b>actccagacc tagacctggt</b>		20
10	<210>	15	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	15	
	<b>gctgaaactc cagacctaga</b>		20
25	<210>	16	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	16	
40	<b>gtccaagctg aaactccaga</b>		20
	<210>	17	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	17	
55	<b>ctcagtgctc aagctgaaac</b>		20
	<210>	18	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65			

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	18	
		<b>aggagagaag ctgggcctgg</b>	20
10	<210>	19	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	19	
		<b>gaaggcagga gagaagctgg</b>	20
25	<210>	20	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	20	
		<b>gtggtggtca cacctccaga</b>	20
40	<210>	21	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	21	
55		<b>ccctccagag agcaggatcc</b>	20
	<210>	22	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	22	
5		<b>tctaccccct ccagagagca</b>	20
	<210>	23	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	23	
20		<b>ttgatctctta cccctccag</b>	20
	<210>	24	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	24	
		<b>tggagaagtc ggaaggagcc</b>	20
	<210>	25	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	25	
		<b>ccctcttgga gaagtcggaa</b>	20
55	<210>	26	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	26	
		<b>gcctggccct cttggagaag</b>	20
5	<210>	27	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	27	
		<b>tccagtgcct ggccctcttg</b>	20
20	<210>	28	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	28	
		<b>agaagccaga aggacacacg</b>	20
35	<210>	29	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	29	
50		<b>acgggtagaa gccagaagga</b>	20
	<210>	30	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	30	

	<b>cgtgtctgca cagggtacgg</b>	<b>20</b>
	<210> 31	
5	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 31	
	<b>agggtgctcc aggaccccg</b>	<b>20</b>
20	<210> 32	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 32	
	<b>ttgtctctgca ctctgccttc</b>	<b>20</b>
35	<210> 33	
	<211> 20	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 33	
50	<b>tattcccccgt tctcgaagtc</b>	<b>20</b>
	<210> 34	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 34	
65	<b>cattgtagta gggagaccgg</b>	<b>20</b>

	<210>	35	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	35	
15	<b>cactcacatt gtagtaggga</b>		20
	<210>	36	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	36	
30	<b>tctcatcact cacattgtag</b>		20
	<210>	37	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	37	
	<b>aagagatctc atcactcaca</b>		20
	<210>	38	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	38	
	<b>agtggaaaga gatctcatca</b>		20
65	<210>	39	



	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	39	
		<b>catagcagtg gaaagagatc</b>	20
15	<210>	40	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	40	
		<b>aaccgtcata gcagtggaaa</b>	20
30	<210>	41	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	41	
45		<b>gagtgttaacc gtcatagcag</b>	20
	<210>	42	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	42	
60		<b>cccggagagt gtaaccgtca</b>	20
	<210>	43	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	43	
10		<b>cagagccccc gagagtgtaa</b>	20
	<210>	44	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	44	
		<b>gattggcaga gccccggaga</b>	20
	<210>	45	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	45	
		<b>aggtgcgatt ggcagagccc</b>	20
45	<210>	46	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	46	
		<b>cttggcaggt gcgattggca</b>	20
60	<210>	47	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	47	
		<b>cattcacttg gcaggtgcca</b>	20
10	<210>	48	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	48	
25		<b>atcgctgtct gccactcca</b>	20
	<210>	49	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	49	
40		<b>tcacagatcg ctgtctgcc</b>	20
	<210>	50	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	50	
		<b>ccgttggtcac agatcgctgt</b>	20
	<210>	51	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	51	
		<b>cccgcctccgt tgtcacagat</b>	20
10	<210>	52	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	52	
		<b>cagtaccccg ctccgttgta</b>	20
25	<210>	53	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	53	
		<b>ttggagcagt accccgctcc</b>	20
40	<210>	54	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	54	
55		<b>accttccttg tgccaatggg</b>	20
	<210>	55	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	55	
5		<b>ctgcccacct tccttgtgcc</b>	20
	<210>	56	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	56	
20		<b>cgctgtcttc aaggcggtag</b>	20
	<210>	57	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	57	
		<b>gctgcagtgg taggtgacgc</b>	20
	<210>	58	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	58	
		<b>cccccggtg cagtggtagg</b>	20
55	<210>	59	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	59	
	<b>ggtaagcccc</b>	<b>cggtgcagt</b>	20
5	<210>	60	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	60	
20	<b>acgcagggtta</b>	<b>agcccccggc</b>	20
	<210>	61	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	61	
35	<b>ggagccacgc</b>	<b>agggttaagcc</b>	20
	<210>	62	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	62	
50	<b>gccgctggga</b>	<b>gccacgcagg</b>	20
	<210>	63	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	63	

	<b>caagagccac cttcctgaca</b>	<b>20</b>
	<210> 64	
5	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 64	
	<b>ccgctccaag agccaccttc</b>	<b>20</b>
20	<210> 65	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 65	
	<b>tccgtcccg cccaagagcc</b>	<b>20</b>
35	<210> 66	
	<211> 20	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 66	
50	<b>gaaggctcag tcccgctcca</b>	<b>20</b>
	<210> 67	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 67	
65	<b>tggcaggaag gtcctgccc</b>	<b>20</b>

	<210>	68	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	68	
15		<b>gagtctttggc aggaaggctc</b>	20
	<210>	69	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	69	
30		<b>atgaaggagt cttggcagga</b>	20
	<210>	70	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	70	
		<b>cttcggccac ctcttgaggg</b>	20
	<210>	71	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	71	
		<b>ggaaagcttc ggccacctct</b>	20
65	<210>	72	



	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	72	
		<b>aagacaggaa agcttcggcc</b>	20
15	<210>	73	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	73	
30		<b>tcagggaaga caggaaagct</b>	20
	<210>	74	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	74	
45		<b>tcgactcctt ctatggtctc</b>	20
	<210>	75	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	75	
60		<b>cttctgttgt tcccctgggc</b>	20
	<210>	76	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	76	
10		<b>ttcatggagc ctgaagggtc</b>	20
	<210>	77	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	77	
		<b>tagatgttca tggagcctga</b>	20
	<210>	78	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	78	
		<b>accaggtaga tgttcatgga</b>	20
45	<210>	79	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	79	
		<b>tctagcacca ggtagatgtt</b>	20
60	<210>	80	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	80	
		<b>gatccatcta gcaccaggta</b>	20
10	<210>	81	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	81	
25		<b>ctgtctgata catctagcac</b>	20
	<210>	82	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	82	
40		<b>ccaatgctgt ctgatccata</b>	20
	<210>	83	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	83	
		<b>tttggtcct gtgaagttgc</b>	20
	<210>	84	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	84	
		<b>acacttttttg gctcctgtga</b>	20
10	<210>	85	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	85	
		<b>gactagacac tttttggctc</b>	20
25	<210>	86	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	86	
		<b>taagttgact agacactttt</b>	20
40	<210>	87	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	87	
55		<b>ctcaattaag ttgactagac</b>	20
	<210>	88	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	88	
5		<b>caccttctca attaagttga</b>	20
	<210>	89	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	89	
20		<b>acttgccacc ttctcaatta</b>	20
	<210>	90	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	90	
		<b>accataactt gccaccttct</b>	20
	<210>	91	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	91	
		<b>cttcacacca taacttgcca</b>	20
55	<210>	92	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	92	
		<b>tcttggcttc acaccataac</b>	20
5	<210>	93	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	93	
		<b>atgtggcata tgtcactaga</b>	20
20	<210>	94	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	94	
35		<b>cagacacttt gacccaaatt</b>	20
	<210>	95	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	95	
50		<b>ggtcttcata attgatttca</b>	20
	<210>	96	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	96	

	<b>acttgtggtc ttcataattg</b>	<b>20</b>
	<210> 97	
5	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 97	
	<b>acttcaactt gtggtcttca</b>	<b>20</b>
	<210> 98	
20	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
30	<400> 98	
	<b>tccctgactt caacttgtgg</b>	<b>20</b>
35	<210> 99	
	<211> 20	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 99	
	<b>tgttagtccc tgacttcaac</b>	<b>20</b>
50	<210> 100	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 100	
65	<b>tcttggtgtt agtccctgac</b>	<b>20</b>

	<210>	101	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	101	
15		<b>tgtacactgc ctggagggcc</b>	20
	<210>	102	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	102	
		<b>tcatgctgta cactgcctgg</b>	20
	<210>	103	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	103	
		<b>gttccagcct tcaggagggga</b>	20
50	<210>	104	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	104	
		<b>ggtgcgggttc cagccttcag</b>	20
65	<210>	105	



	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	105	
		<b>atggcggtg cggttccagc</b>	20
15	<210>	106	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	106	
30		<b>gatgacatgg cgggtgcggt</b>	20
	<210>	107	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	107	
45		<b>gaggatgatg acatggcggg</b>	20
	<210>	108	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	108	
		<b>cccatgttgt gcaatccatc</b>	20
	<210>	109	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	109	
		<b>tccccgccca tgttgtgcaa</b>	20
	<210>	110	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	110	
		<b>attgggtccc cgcccatggt</b>	20
30	<210>	111	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	111	
		<b>acagtaattg ggtccccgcc</b>	20
45	<210>	112	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	112	
60		<b>tcaatgacag taattgggtc</b>	20
	<210>	113	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	113	
10		<b>atctcatcaa tgacagtaat</b>	20
	<210>	114	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	114	
25		<b>tcccggatct catcaatgac</b>	20
	<210>	115	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	115	
		<b>acatccagat aatcctccct</b>	20
	<210>	116	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	116	
		<b>acatagacat ccagataatc</b>	20
60	<210>	117	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	117	
	<b>ccaaacacat agacatccag</b>		20
10	<210>	118	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	118	
	<b>agcattgatg ttcacttggt</b>		20
25	<210>	119	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	119	
40	<b>agccaaagca ttgatgttca</b>		20
	<210>	120	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	120	
55	<b>cttgggaagcc aaagcattga</b>		20
	<210>	121	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	121	
5		<b>gtcttttcttg gaagccaaag</b>	20
	<210>	122	
10	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	122	
		<b>ctcattgtct ttcttggaag</b>	20
	<210>	123	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	123	
		<b>atgttgctca ttgtctttct</b>	20
40	<210>	124	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	124	
		<b>gaacacatgt tgctcattgt</b>	20
55	<210>	125	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	125	
5		<b>gactttgaac acatgttgct</b>	20
	<210>	126	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	126	
20		<b>atccttgact ttgaacacat</b>	20
	<210>	127	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	127	
35		<b>ttccatatcc ttgactttga</b>	20
	<210>	128	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	128	
		<b>caggttttcc atatccttga</b>	20
	<210>	129	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	129	

	<b>ctcagagact ggotttcatc</b>	<b>20</b>
5	<210> 130	
	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 130	
	<b>cagagactca gagactggct</b>	<b>20</b>
20	<210> 131	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 131	
35	<b>atgccacaga gactcagaga</b>	<b>20</b>
	<210> 132	
	<211> 20	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 132	
50	<b>caaaccatgc cacagagact</b>	<b>20</b>
	<210> 133	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 133	
65	<b>tgttcccaaa ccatgccaca</b>	<b>20</b>

	<210>	134	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	134	
15		<b>ttgttggtaat cggtaccctt</b>	<b>20</b>
	<210>	135	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	135	
		<b>ggttgcttgt ggtaatcggg</b>	<b>20</b>
	<210>	136	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	136	
		<b>tgcacatggtt gcttggtgta</b>	<b>20</b>
50	<210>	137	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	137	
		<b>ttggcctgcc atggttgctt</b>	<b>20</b>
65			



	<210>	138	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	138	
15		<b>gagatcttgg cctgccatgg</b>	<b>20</b>
	<210>	139	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	139	
30		<b>acagcccccacacagctctc</b>	<b>20</b>
	<210>	140	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	140	
		<b>gacaccacag ccccataca</b>	<b>20</b>
	<210>	141	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	141	
		<b>tactcagaca ccacagcccc</b>	<b>20</b>
65	<210>	142	

	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	142	
		<b>acaaagtact cagacaccac</b>	20
15	<210>	143	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	143	
30		<b>gtcagcacaa agtactcaga</b>	20
	<210>	144	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	144	
45		<b>ttgattgagt gttccttgtc</b>	20
	<210>	145	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	145	
		<b>ctgaccttga ttgagtgttc</b>	20
65	<210>	146	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	146	
		<b>tatctccagg tccogttct</b>	<b>20</b>
15	<210>	147	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	147	
		<b>gaattcctgc ttcttttttc</b>	<b>20</b>
30	<210>	148	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	148	
45		<b>attcaggaat tectgettct</b>	<b>20</b>
	<210>	149	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	149	
60		<b>cataaaattc aggaattcct</b>	<b>20</b>
	<210>	150	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	150	
		<b>catagtcata aaattcagga</b>	20
15	<210>	151	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	151	
		<b>tgagcttgat cagggcaacg</b>	20
30	<210>	152	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	152	
		<b>tattcttgag cttgatcagg</b>	20
45	<210>	153	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	153	
60		<b>gacaaatggg cctgatagtc</b>	20
	<210>	154	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	154	
10		<b>gttggtccct cggtgcaggg</b>	<b>20</b>
	<210>	155	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	155	
		<b>gctcgagttg ttccctcggg</b>	<b>20</b>
	<210>	156	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	156	
		<b>ctcaaagctc gagttgttcc</b>	<b>20</b>
45	<210>	157	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	157	
		<b>ggaagcctca aagctcgagt</b>	<b>20</b>
60	<210>	158	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	158	
		<b>gttggaggaa gcctcaaagc</b>	<b>20</b>
10	<210>	159	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	159	
		<b>gtggtagttg gaggaagcct</b>	<b>20</b>
25	<210>	160	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	160	
40		<b>tggcaagtgg tagttggagg</b>	<b>20</b>
	<210>	161	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	161	
		<b>tgttgctggc aagtggtagt</b>	<b>20</b>
	<210>	162	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	162	
	<b>tccagctcac tccctgttg</b>		<b>20</b>
10	<210>	163	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	163	
	<b>taaggatcca gtcactccc</b>		<b>20</b>
25	<210>	164	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	164	
40	<b>cagaaataag gatccagctc</b>		<b>20</b>
	<210>	165	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	165	
55	<b>agggaccaga aataaggatc</b>		<b>20</b>
	<210>	166	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65			

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	166	
		<b>ccacttaggg accagaaata</b>	20
10	<210>	167	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	167	
		<b>tccaggactc tccccttcag</b>	20
25	<210>	168	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	168	
		<b>aagtcccacc ctttgcctgcc</b>	20
40	<210>	169	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	169	
55		<b>ctgcagaagt cccacccttt</b>	20
	<210>	170	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		



	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	170	
5		<b>cagaaactgc agaagtccca</b>	20
	<210>	171	
10	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	171	
		<b>aacctctgca ctctgccttc</b>	20
	<210>	172	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	172	
		<b>ccctcaaacc tctgcactct</b>	20
40	<210>	173	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	173	
		<b>tcattgccct caaacctctg</b>	20
55	<210>	174	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	174	
5		<b>ccacactcat tgccctcaaa</b>	20
	<210>	175	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	175	
20		<b>cactgcccac actcattgcc</b>	20
	<210>	176	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	176	
35		<b>ttaggccact gcccacactc</b>	20
	<210>	177	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	177	
		<b>ctagtctctga ccttgctgcc</b>	20
	<210>	178	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	178	

		<b>ctcaccctag tcccgacctt</b>	<b>20</b>
5	<210>	179	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	179	
		<b>cctagtcctca tcccgatcct</b>	<b>20</b>
20	<210>	180	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
25	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	180	
		<b>accctgccta gtctcatcct</b>	<b>20</b>
35	<210>	181	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
45	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	181	
50		<b>cttgcacccc tgcctagtcct</b>	<b>20</b>
	<210>	182	
	<211>	20	
55	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	182	

	<b>gcccacottg tcacccctgcc</b>	<b>20</b>
	<210> 183	
5	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 183	
	<b>cctaaaaactg ctctactcc</b>	<b>20</b>
20	<210> 184	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 184	
	<b>gagtcagaaa tgaggtcaaa</b>	<b>20</b>
35	<210> 185	
	<211> 20	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 185	
50	<b>ccctactccc atttcacott</b>	<b>20</b>
	<210> 186	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 186	
65	<b>tgttggtgcaa tctgcagaa</b>	<b>20</b>

	<210>	187	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	187	
15		<b>aaaggctgat gaagcctggc</b>	<b>20</b>
	<210>	188	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	188	
30		<b>cctttgacca caaagtggcc</b>	<b>20</b>
	<210>	189	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	189	
		<b>aggtaccacc tctttgtggg</b>	<b>20</b>
	<210>	190	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	190	
		<b>tggtggtcac acctgaagag</b>	<b>20</b>
65	<210>	191	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	191	
		<b>gcagggagca gctcttcctt</b>	<b>20</b>
15	<210>	192	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	192	
30		<b>tcctgtgcag ggagcagctc</b>	<b>20</b>
	<210>	193	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	193	
45		<b>ttgatatacct gtgcagggag</b>	<b>20</b>
	<210>	194	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	194	
		<b>agagctttga tctcctgtgc</b>	<b>20</b>
65	<210>	195	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	195	
		<b>acaaacagag ctttgatac</b>	<b>20</b>
15	<210>	196	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	196	
		<b>tcagacacaa acagagcttt</b>	<b>20</b>
30	<210>	197	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	197	
45		<b>tcctcctcag acacaaacag</b>	<b>20</b>
	<210>	198	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	198	
60		<b>acctccttcc gagtcagott</b>	<b>20</b>
	<210>	199	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	199	
		<b>atgtagacct ccttcgagt</b>	<b>20</b>
15	<210>	200	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	200	
		<b>ttcttgatgt agacctcctt</b>	<b>20</b>
30	<210>	201	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	201	
		<b>tccccattct tgatgtagac</b>	<b>20</b>
45	<210>	202	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	202	
60		<b>ttcttatccc cattcttgat</b>	<b>20</b>
	<210>	203	
65	<211>	20	



	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	203	
10		<b>ctgcctttct tatccccatt</b>	<b>20</b>
	<210>	204	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	204	
		<b>tcacagctgc ctttcttata</b>	<b>20</b>
	<210>	205	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	205	
		<b>tctctctcac agctgccttt</b>	<b>20</b>
45	<210>	206	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	206	
		<b>tgagcatctc tctcacagct</b>	<b>20</b>
60	<210>	207	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	207	
10	<b>gcatattgag catctctctc</b>		<b>20</b>
	<210>	208	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	208	
25	<b>tgactttgtc atagcctggg</b>		<b>20</b>
	<210>	209	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	209	
	<b>tgtccttgac tttgtcatag</b>		<b>20</b>
	<210>	210	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	210	
	<b>cagtacaaag gaaccgaggg</b>		<b>20</b>
60	<210>	211	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
65			

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	211	
		<b>ctcctccagt acaaaggaac</b>	<b>20</b>
10	<210>	212	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	212	
25		<b>gactcactcc tccagtacaa</b>	<b>20</b>
	<210>	213	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	213	
40		<b>catagggact cactcctcca</b>	<b>20</b>
	<210>	214	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	214	
		<b>ggtcagcata gggactcact</b>	<b>20</b>
	<210>	215	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	215	
		<b>tcacctctgc aagtattggg</b>	<b>20</b>
10	<210>	216	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	216	
		<b>ccagaatcac ctctgcaagt</b>	<b>20</b>
25	<210>	217	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	217	
40		<b>gggccgccag aatcacctct</b>	<b>20</b>
	<210>	218	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	218	
55		<b>ctcttgtgaa ctatcaagg</b>	<b>20</b>
	<210>	219	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65			

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	219	
		<b>cgacttctct tgtgaactat</b>	<b>20</b>
10	<210>	220	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	220	
		<b>atgaaacgac ttctcttgtg</b>	<b>20</b>
25	<210>	221	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	221	
		<b>acttgaatga aacgacttct</b>	<b>20</b>
40	<210>	222	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	222	
55		<b>acaccaactt gaatgaaacg</b>	<b>20</b>
	<210>	223	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	223	
5		<b>tccactactc cccagctgat</b>	20
	<210>	224	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	224	
20		<b>cagacatcca ctactcccca</b>	20
	<210>	225	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	225	
		<b>tttttgcaga catccactac</b>	20
	<210>	226	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	226	
		<b>ttctggtttt tgcagacatc</b>	20
55	<210>	227	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	227	
5		<b>tgccgcttct ggtttttgea</b>	20
	<210>	228	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	228	
20		<b>tgctttttgcc gcttcttggt</b>	20
	<210>	229	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	229	
35		<b>ggtacctgct tttgccgctt</b>	20
	<210>	230	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	230	
		<b>tgagcaggta cctgcttttg</b>	20
	<210>	231	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65			

	<400>	231	
		<b>ttcagccagg gcagcacttg</b>	20
5	<210>	232	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	232	
		<b>ttctccttca gccagggcag</b>	20
20	<210>	233	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	233	
35		<b>tgagagtttct ccttcagcca</b>	20
	<210>	234	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	234	
50		<b>tcaccttgga gtttctcctt</b>	20
	<210>	235	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	235	



	<b>aaatcctcat cttggagttt</b>	<b>20</b>
	<210> 236	
5	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 236	
	<b>aaacccaaat cctcatcttg</b>	<b>20</b>
	<210> 237	
20	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
30	<400> 237	
	<b>gtccagcagg aaacccctta</b>	<b>20</b>
35	<210> 238	
	<211> 20	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 238	
	<b>gccccctgtcc agcaggaaac</b>	<b>20</b>
50	<210> 239	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 239	
65	<b>agctgtttta attcaatccc</b>	<b>20</b>

	<210>	240	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	240	
15		<b>aacttgccac ctgtgggtga</b>	<b>20</b>
	<210>	241	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	241	
		<b>tcacattatc cccattcttg</b>	<b>20</b>
	<210>	242	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	242	
		<b>tcaactttca caaaccacca</b>	<b>20</b>
50	<210>	243	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	243	
		<b>ccgccagaat cacctgcaag</b>	<b>20</b>
65			

	<210>	244	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	244	
15		<b>aggaggaatg aagaaggctt</b>	<b>20</b>
	<210>	245	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	245	
30		<b>gcctttctctc agggatctgg</b>	<b>20</b>
	<210>	246	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	246	
		<b>aaatgtctgg gagtgtcagg</b>	<b>20</b>
	<210>	247	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	247	
		<b>gcctagagtg cctccttagg</b>	<b>20</b>
65	<210>	248	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	248	
		<b>ggcatctccc cagataggaa</b>	<b>20</b>
15	<210>	249	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	249	
		<b>agggagctag tcctggaaga</b>	<b>20</b>
30	<210>	250	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	250	
45		<b>acacctgaag agaaaggctg</b>	<b>20</b>
	<210>	251	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	251	
60		<b>ccctttgacc acaaagtggc</b>	<b>20</b>
	<210>	252	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	252	
		<b>gccctcaagg tagtctcatg</b>	<b>20</b>
15	<210>	253	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	253	
		<b>aaggggaagga ggacagaata</b>	<b>20</b>
30	<210>	254	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	254	
		<b>aaaggccaag gagggatgct</b>	<b>20</b>
45	<210>	255	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	255	
60		<b>agaggtcacct tctgaccatc</b>	<b>20</b>
	<210>	256	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	256	
10		<b>gctgggacag gagagaggtc</b>	<b>20</b>
	<210>	257	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	257	
		<b>tcaaattgtct gggagtgtca</b>	<b>20</b>
	<210>	258	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	258	
		<b>agaaggagaa tgtgctgaaa</b>	<b>20</b>
45	<210>	259	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	259	
		<b>tgctgaccac ttggcatctc</b>	<b>20</b>
60	<210>	260	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	260	
10		<b>caactttcac aaaccaccat</b>	20
	<210>	261	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	261	
25		<b>agctctgtga ttctaaggtt</b>	20
	<210>	262	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	262	
		<b>ccacctgtgg gtgaggagaa</b>	20
	<210>	263	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	263	
		<b>gaggactcac ttgaatgaaa</b>	20
60	<210>	264	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	264	
	<b>tggaatgata agggagctag</b>		<b>20</b>
10	<210>	265	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	265	
	<b>gtccattctc cattttcccc</b>		<b>20</b>
25	<210>	266	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	266	
40	<b>tcaacttttt aagttaatca</b>		<b>20</b>
	<210>	267	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	267	
55	<b>gggtgaggag aacaaggcgc</b>		<b>20</b>
	<210>	268	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		



	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	268	
5		<b>cttccaagcc atcttttaac</b>	20
	<210>	269	
10	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	269	
		<b>aggactcact tgaatgaaac</b>	20
	<210>	270	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	270	
		<b>ttccaggcaa ctagagottc</b>	20
40	<210>	271	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	271	
		<b>cagagtccag ccaactgtttg</b>	20
55	<210>	272	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	272	
5		<b>ccaacctgca gaggcagtgg</b>	20
	<210>	273	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	273	
20		<b>tgcaaggaga ggagaagctg</b>	20
	<210>	274	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	274	
35		<b>ctaggcaggt tactcaccca</b>	20
	<210>	275	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	275	
		<b>caccataact tgccacctgt</b>	20
	<210>	276	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	276	

	<b>taggtaccac ctctttgtgg</b>	<b>20</b>
5	<210> 277	
	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 277	
	<b>cttgacctca cctccccaa</b>	<b>20</b>
20	<210> 278	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 278	
	<b>ccacctcttt gtgggcagct</b>	<b>20</b>
35	<210> 279	
	<211> 20	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 279	
50	<b>ttcacaacc accatctctt</b>	<b>20</b>
	<210> 280	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 280	
65	<b>ttctcacctc cgttgtcaca</b>	<b>20</b>

	<210>	281	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	281	
15		<b>gaaagtggga ggtgttgct</b>	<b>20</b>
	<210>	282	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	282	
		<b>acagcaggaa ggaaggtta</b>	<b>20</b>
	<210>	283	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	283	
		<b>catgctgacc acttgcatc</b>	<b>20</b>
50	<210>	284	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	284	
		<b>ggtcaccttg gcaggaaggc</b>	<b>20</b>
65	<210>	285	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	285	
15		<b>gtatagtgtt acaagtggac</b>	<b>20</b>
	<210>	286	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	286	
30		<b>ggacttccct ttgaccacaa</b>	<b>20</b>
	<210>	287	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	287	
45		<b>tcaccttgac ctcacctccc</b>	<b>20</b>
	<210>	288	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	288	
		<b>tagagtgcct cottaggatg</b>	<b>20</b>
	<210>	289	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	289	
		<b>tgacttcaac ttgtggtctg</b>	<b>20</b>
	<210>	290	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	290	
		<b>cagagaagga gaatgtgctg</b>	<b>20</b>
30	<210>	291	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	291	
		<b>agggagcagc ttttccctctg</b>	<b>20</b>
45	<210>	292	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	292	
60		<b>tgttccctctg ggtgccagga</b>	<b>20</b>
	<210>	293	
	<211>	20	
65			

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	293	
10		<b>ggcctggctg ttttcaagcc</b>	20
	<210>	294	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	294	
		<b>gactggcttt catctggcag</b>	20
	<210>	295	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	295	
		<b>gaaggctttc caggcaacta</b>	20
45	<210>	296	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	296	
		<b>tcacttgaat gaaacgactt</b>	20
60	<210>	297	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	297	
10		<b>ggccccaaaa ggccaaggag</b>	20
	<210>	298	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	298	
25		<b>aatcacctgc aaggagagga</b>	20
	<210>	299	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	299	
		<b>gaccttcagt tgcataccta</b>	20
	<210>	300	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	300	
		<b>tgatgaagcc tggccccaaa</b>	20
60	<210>	301	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
65			



	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	301	
		<b>tagaaagtgg gaggtgttgc</b>	<b>20</b>
10	<210>	302	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	302	
25		<b>cccatccctg actggtctgg</b>	<b>20</b>
	<210>	303	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	303	
40		<b>ccatgggtat agtgttaca</b>	<b>20</b>
	<210>	304	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	304	
		<b>gtgttctctt gacttccagg</b>	<b>20</b>
	<210>	305	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	305	
	<b>ggcctgctcc tcaccccagt</b>		<b>20</b>
10	<210>	306	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	306	
	<b>gaggcctggc tgttttcaag</b>		<b>20</b>
25	<210>	307	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	307	
40	<b>gactctcccc ttcagtaact</b>		<b>20</b>
	<210>	308	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	308	
55	<b>catgggtata gtgttacaag</b>		<b>20</b>
	<210>	309	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65			

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	309	
		<b>gaaggagaat gtgctgaaaa</b>	20
10	<210>	310	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	310	
		<b>tcacctggtc ttccaagcca</b>	20
25	<210>	311	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	311	
		<b>ctccccagat aggaaaggga</b>	20
40	<210>	312	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	312	
55		<b>ggactcactt gaatgaaacg</b>	20
	<210>	313	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	313	
5		<b>ggcgcgcaga atcacctgca</b>	<b>20</b>
	<210>	314	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	314	
20		<b>ctcacttgaa tgaaacgact</b>	<b>20</b>
	<210>	315	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	315	
		<b>ctttcccagc ctttcctcag</b>	<b>20</b>
	<210>	316	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	316	
		<b>agaaagtggg aggtgttgcc</b>	<b>20</b>
55	<210>	317	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	317	
5		<b>gtcgcagctg ttttaattca</b>	20
	<210>	318	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	318	
20		<b>ccaggactct ccccttcagt</b>	20
	<210>	319	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	319	
35		<b>agggaaggag gacagaatag</b>	20
	<210>	320	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	320	
		<b>gaaatgaggt caaatgtctg</b>	20
	<210>	321	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65			

	<400>	321	
		<b>ggagagtcag aaatgaggtc</b>	<b>20</b>
5	<210>	322	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	322	
		<b>gtagaaagtg ggaggtgttg</b>	<b>20</b>
20	<210>	323	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	323	
		<b>tagaaagatc tctgaagtgc</b>	<b>20</b>
35	<210>	324	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	324	
50		<b>ctgtctctca cccagtcct</b>	<b>20</b>
	<210>	325	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	325	

	<b>ctactgggat totgtgotta</b>	<b>20</b>
	<210> 326	
5	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 326	
	<b>cccaaaaaggc caaggaggga</b>	<b>20</b>
	<210> 327	
20	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
30	<400> 327	
	<b>tgaccacttg gcatctcccc</b>	<b>20</b>
35	<210> 328	
	<211> 20	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 328	
	<b>cctgcaagga gaggagaagc</b>	<b>20</b>
50	<210> 329	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 329	
65	<b>ctctcacctc tgcaagtatt</b>	<b>20</b>

	<210>	330	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	330	
15		<b>ccccaaaagg ccaaggaggg</b>	<b>20</b>
	<210>	331	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	331	
		<b>gttttccaag ccatcttta</b>	<b>20</b>
	<210>	332	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	332	
		<b>gttacaagtg gacttaaggg</b>	<b>20</b>
50	<210>	333	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	333	
		<b>cccatgttgt gcaatcctgc</b>	<b>20</b>
65			



	<210>	334	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	334	
15		<b>gaggtgggaa gcatggagaa</b>	<b>20</b>
	<210>	335	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	335	
30		<b>tgctcccaac actgtcatct</b>	<b>20</b>
	<210>	336	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	336	
		<b>aggcaggtta ctcacccaga</b>	<b>20</b>
	<210>	337	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	337	
		<b>tactgggatt ctgtgcttac</b>	<b>20</b>
65	<210>	338	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	338	
		<b>gcatttccca gcatttccca</b>	<b>20</b>
15	<210>	339	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	339	
30		<b>gtgcaatcct gcagaagaga</b>	<b>20</b>
	<210>	340	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	340	
45		<b>acaggagaga ggtcccttct</b>	<b>20</b>
	<210>	341	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	341	
		<b>cccaaaagga gaaagggaaa</b>	<b>20</b>
65	<210>	342	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	342	
		<b>aagcccaggg taaatgotta</b>	<b>20</b>
15	<210>	343	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	343	
		<b>gatgaagcct ggccccaaaa</b>	<b>20</b>
30	<210>	344	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	344	
45		<b>tggcagagaa ggagaatgtg</b>	<b>20</b>
	<210>	345	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	345	
60		<b>ttcccagcct ttccctcagg</b>	<b>20</b>
	<210>	346	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	346	
		<b>ggcagagaag gagaatgtgc</b>	<b>20</b>
15	<210>	347	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	347	
		<b>acagtgccag gaaacaagaa</b>	<b>20</b>
30	<210>	348	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	348	
45		<b>taggcaggtt actcaccag</b>	<b>20</b>
	<210>	349	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	349	
60		<b>ttctcttgac ttccagggct</b>	<b>20</b>
	<210>	350	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	350	
10		<b>cctgctcctc accccagtc</b>	<b>20</b>
	<210>	351	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	351	
		<b>tcccactaac ctccattgcc</b>	<b>20</b>
	<210>	352	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	352	
		<b>ttccctttga ccacaaagtg</b>	<b>20</b>
45	<210>	353	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	353	
		<b>ctgggtccta ggcaggttac</b>	<b>20</b>
60	<210>	354	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	354	
10		<b>tccaggcaac tagagcttca</b>	<b>20</b>
	<210>	355	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	355	
25		<b>gcccatgttg tgcaatcctg</b>	<b>20</b>
	<210>	356	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	356	
		<b>ggttcccact aacctccatt</b>	<b>20</b>
	<210>	357	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	357	
		<b>aggtagagag caagagttac</b>	<b>20</b>
60	<210>	358	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	358	
		<b>ccactaacct ccattgccca</b>	20
10	<210>	359	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	359	
		<b>tcacaaaacca ccatctctta</b>	20
25	<210>	360	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	360	
40		<b>tactcaccoca gataatcctc</b>	20
	<210>	361	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	361	
55		<b>tgctctctcac cccagtcttc</b>	20
	<210>	362	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	362	
5		<b>tctcacagct gcccttctgt</b>	20
	<210>	363	
10	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	363	
		<b>gaaagggagg actcacttga</b>	20
	<210>	364	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	364	
		<b>ccatcttttta accccagaga</b>	20
40	<210>	365	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	365	
		<b>tcctcaccctc agtcctccag</b>	20
55	<210>	366	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	



	<400>	366	
5		<b>ctggcagaga aggagaatgt</b>	20
	<210>	367	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	367	
20		<b>tctccccaga taggaaagg</b>	20
	<210>	368	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	368	
35		<b>acttcagctg ctcccaccac</b>	20
	<210>	369	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	369	
		<b>gacagcagga agggaaaggtt</b>	20
	<210>	370	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	370	

		<b>ggagacaaat gggcctataa</b>	<b>20</b>
5	<210>	371	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	371	
		<b>ctgctcccaac cactgtcatc</b>	<b>20</b>
20	<210>	372	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
25	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	372	
		<b>aggaatgaag aaggctttcc</b>	<b>20</b>
35	<210>	373	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
45	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	373	
50		<b>gggatctcat ccttatacctc</b>	<b>20</b>
	<210>	374	
	<211>	20	
55	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	374	
65		<b>gtgctgggtc ctaggcaggt</b>	<b>20</b>

	<210>	375	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	375	
15		<b>caaaaggcca aggagggatg</b>	<b>20</b>
	<210>	376	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	376	
		<b>ccatgctgac cacttggcat</b>	<b>20</b>
	<210>	377	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	377	
		<b>ggaggctggg acaggagaga</b>	<b>20</b>
50	<210>	378	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	378	
		<b>ggagcagctc ttctcttgga</b>	<b>20</b>
65			

	<210>	379	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	379	
15		<b>tctcacctcc gttgtcacag</b>	<b>20</b>
	<210>	380	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	380	
30		<b>cagtcctcca gcctttccca</b>	<b>20</b>
	<210>	381	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	381	
		<b>agtcctccag cctttccag</b>	<b>20</b>
	<210>	382	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	382	
		<b>tgaaggagtc tgggagagtc</b>	<b>20</b>
65	<210>	383	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	383	
		<b>cagaatcacc tgcaaggaga</b>	<b>20</b>
15	<210>	384	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	384	
		<b>taggaaaggg aggactcact</b>	<b>20</b>
30	<210>	385	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	385	
45		<b>accttggcag gaaggctcag</b>	<b>20</b>
	<210>	386	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	386	
60		<b>gagacaaatg ggcctataaa</b>	<b>20</b>
	<210>	387	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	387	
		<b>ctgaagagaa aggcctgatga</b>	<b>20</b>
	<210>	388	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	388	
		<b>aatgatcagg gagctagtc</b>	<b>20</b>
30	<210>	389	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	389	
		<b>cttagctgac ctaaaggaat</b>	<b>20</b>
45	<210>	390	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	390	
60		<b>tgggtatagt gttacaagtg</b>	<b>20</b>
	<210>	391	
	<211>	20	
65			

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	391	
10		<b>tgaagagaaa ggctgatgaa</b>	<b>20</b>
	<210>	392	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	392	
		<b>gtgttacaag tggacttaag</b>	<b>20</b>
	<210>	393	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	393	
		<b>acctgtgggt gaggagaaca</b>	<b>20</b>
45	<210>	394	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	394	
		<b>tcacccagat aatcctccct</b>	<b>20</b>
60	<210>	395	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	395	
		<b>tgttgtcgca gctgttttaa</b>	<b>20</b>
10	<210>	396	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	396	
25		<b>tggtcacatt cccctccccc</b>	<b>20</b>
	<210>	397	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	397	
40		<b>cctggtcaca ttcccttccc</b>	<b>20</b>
	<210>	398	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	398	
		<b>tagacctggt cacattccct</b>	<b>20</b>
	<210>	399	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	



	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	399	
	cctagacctg gtcacattcc		20
10	<210>	400	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	400	
	ccttcogagt cagctttttc		20
25	<210>	401	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	401	
40	ctccttcoga gtcagctttt		20
	<210>	402	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	402	
55	agacctcctt ccgagtcagc		20
	<210>	403	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65			

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	403	
		<b>gtagacctcc ttccgagtca</b>	20
10	<210>	404	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	404	
		<b>tttgcgcgatt ctggtttttg</b>	20
25	<210>	405	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	405	
		<b>cttttgcgcgc ttctggttttt</b>	20
40	<210>	406	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	406	
55		<b>cctgccttttg ccgcttctgg</b>	20
	<210>	407	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	407	
		<b>tacctgcttt tgccgcttct</b>	20
10	<210>	408	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	408	
		<b>agaaaaccca aatcctcatc</b>	20
25	<210>	409	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	409	
		<b>tagaaaaccc aaatcctcat</b>	20
40	<210>	410	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	410	
55		<b>atagaaaacc caaatcctca</b>	20
	<210>	411	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	411	
5		<b>tatagaaaac ccaaatcctc</b>	20
	<210>	412	
10	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	412	
		<b>ttatagaaaa cccaaatcct</b>	20
	<210>	413	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	413	
		<b>cttatagaaa acccaaatcc</b>	20
40	<210>	414	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	414	
		<b>ccttatagaa aacccaaatc</b>	20
55	<210>	415	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	415	
5		<b>cccttataga aaacccaaat</b>	20
	<210>	416	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	416	
20		<b>ccccttatag aaaacccaaa</b>	20
	<210>	417	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	417	
		<b>acccttata gaaaacccaa</b>	20
	<210>	418	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	418	
		<b>aacccttat agaaaaccca</b>	20
55	<210>	419	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	419	
5		<b>aaacccctta tagaaaacc</b>	20
	<210>	420	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	420	
20		<b>gaaacccctt atagaaaacc</b>	20
	<210>	421	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	421	
35		<b>ggaaacccct tatagaaaac</b>	20
	<210>	422	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	422	
		<b>aggaaacccc ttatagaaaa</b>	20
	<210>	423	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	423	

	<b>caggaaaccc cttatagaa</b>	<b>20</b>
5	<210> 424	
	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 424	
	<b>gcaggaaacc ccttatagaa</b>	<b>20</b>
20	<210> 425	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 425	
	<b>agcaggaaac cccttataga</b>	<b>20</b>
35	<210> 426	
	<211> 20	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 426	
50	<b>cagcaggaaa ccccttatag</b>	<b>20</b>
	<210> 427	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 427	
65	<b>ccagcaggaa accccttata</b>	<b>20</b>

	<210>	428	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	428	
15		<b>tccagcagga aaccccttat</b>	20
	<210>	429	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	429	
		<b>tgtccagcag gaaacccctt</b>	20
	<210>	430	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	430	
		<b>ctgtccagca ggaaacccct</b>	20
50	<210>	431	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	431	
		<b>cctgtccagc aggaaacccc</b>	20
65			



	<210>	432	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	432	
15		<b>ccctgtccag caggaaaccc</b>	20
	<210>	433	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	433	
30		<b>cccctgtcca gcaggaaacc</b>	20
	<210>	434	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	434	
		<b>cgcccctgtc cagcaggaaa</b>	20
	<210>	435	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	435	
		<b>acgcccctgt ccagcaggaa</b>	20
65	<210>	436	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	436	
		<b>cacgcccctg tccagcagga</b>	20
15	<210>	437	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	437	
		<b>ccacgcccct gtccagcagg</b>	20
30	<210>	438	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	438	
45		<b>cccacgcccc tgtccagcag</b>	20
	<210>	439	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	439	
60		<b>tcccacgccc ctgtccagca</b>	20
	<210>	440	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	440	
10		<b>atcccacgcc cctgtccagc</b>	20
	<210>	441	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	441	
		<b>aatcccacgc ccctgtccag</b>	20
	<210>	442	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	442	
		<b>caatcccacg cccctgtcca</b>	20
45	<210>	443	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	443	
		<b>tcaatcccac gccctgtcc</b>	20
60	<210>	444	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	444	
		<b>ttcaatccca cgccccctgtc</b>	20
10	<210>	445	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	445	
25		<b>attcaatccc acgccccctgt</b>	20
	<210>	446	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	446	
40		<b>aattcaatcc cacgccccctg</b>	20
	<210>	447	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	447	
		<b>taattcaatc ccacgccccct</b>	20
	<210>	448	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	448	
		<b>ttaattcaat cccacgcccc</b>	20
	<210>	449	
10	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	449	
		<b>tttaattcaa tcccacgccc</b>	20
25	<210>	450	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	450	
		<b>ttttaattca atcccacgcc</b>	20
40	<210>	451	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	451	
55		<b>gttttaattc aatcccacgc</b>	20
	<210>	452	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	452	
5		<b>tggttttaatt caatcccacg</b>	20
	<210>	453	
10	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	453	
		<b>ctggttttaat tcaatcccac</b>	20
	<210>	454	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	454	
		<b>gctggttttaa ttcaatccca</b>	20
40	<210>	455	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	455	
		<b>cagctggtttt aattcaatcc</b>	20
55	<210>	456	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	456	
5		<b>gcagctgttt taattcaatc</b>	20
	<210>	457	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	457	
20		<b>cgcagctgtt ttaattcaat</b>	20
	<210>	458	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	458	
35		<b>tgcagctgt ttttaattcaa</b>	20
	<210>	459	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	459	
		<b>tgtcgcagct gttttaattc</b>	20
	<210>	460	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65			

	<400>	460	
		<b>ttgtcgcagc tgttttaatt</b>	<b>20</b>
5	<210>	461	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	461	
		<b>gttgtcgcag ctgttttaatt</b>	<b>20</b>
20	<210>	462	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	462	
		<b>ttgttgcgc agctgtttta</b>	<b>20</b>
35	<210>	463	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	463	
50		<b>tttgttgcgc cagctgtttt</b>	<b>20</b>
	<210>	464	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	464	



	<b>ttttgttgtc gcagctgtt</b>	<b>20</b>
5	<210> 465	
	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 465	
	<b>tttttgttgt cgcagctgtt</b>	<b>20</b>
20	<210> 466	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 466	
	<b>ggatccagct cactccccctg</b>	<b>20</b>
35	<210> 467	
	<211> 20	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 467	
50	<b>aaataaggat ccagctcact</b>	<b>20</b>
	<210> 468	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
65	<400> 468	

	<b>gaccagaaat aaggatccag</b>	<b>20</b>
	<210> 469	
5	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 469	
	<b>cttagggacc agaaataagg</b>	<b>20</b>
20	<210> 470	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 470	
	<b>caccactta gggaccagaa</b>	<b>20</b>
35	<210> 471	
	<211> 20	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 471	
50	<b>accaccact tagggaccag</b>	<b>20</b>
	<210> 472	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 472	
65	<b>aggtccagga ctctccctt</b>	<b>20</b>

	<210>	473	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	473	
15		<b>aaggtccagg actctccct</b>	<b>20</b>
	<210>	474	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	474	
		<b>aaactgcaga agtcccaccc</b>	<b>20</b>
	<210>	475	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	475	
		<b>ggagggcccc gctgagctgc</b>	<b>20</b>
50	<210>	476	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	476	
		<b>tcccggaaca tccaagcggg</b>	<b>20</b>
65			

	<210>	477	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	477	
15		<b>catcactttc ccggaacatc</b>	20
	<210>	478	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	478	
30		<b>ctggtcacat tcccttcccc</b>	20
	<210>	479	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	479	
		<b>ctagacctgg tcacattccc</b>	20
	<210>	480	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	480	
		<b>ggagtgggtg tcacacctcc</b>	20
65	<210>	481	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	481	
		<b>acccccctcca gagagcagga</b>	20
15	<210>	482	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	482	
30		<b>atctctaccc cctccagaga</b>	20
	<210>	483	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	483	
45		<b>ggtacgggta gaagccagaa</b>	20
	<210>	484	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	484	
		<b>ggagagtgtgta accgtcatag</b>	20
65	<210>	485	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	485	
		<b>tgcgattggc agagccccgg</b>	<b>20</b>
15	<210>	486	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	486	
		<b>ggcaggtgcg attggcagag</b>	<b>20</b>
30	<210>	487	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	487	
45		<b>ggccattcac ttggcaggtg</b>	<b>20</b>
	<210>	488	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	488	
60		<b>ttgtcacaga tcgtgtcttg</b>	<b>20</b>
	<210>	489	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	489	
		<b>aaggagtctt ggcaggaagg</b>	<b>20</b>
15	<210>	490	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	490	
		<b>gtacatgaag gagtcttggc</b>	<b>20</b>
30	<210>	491	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	491	
		<b>aagcttcggc cacctcttga</b>	<b>20</b>
45	<210>	492	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	492	
60		<b>ccatctagca ccaggtagat</b>	<b>20</b>
	<210>	493	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	493	
10		<b>ggccccaatg ctgtctgac</b>	<b>20</b>
	<210>	494	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	494	
		<b>aattaagttg actagacact</b>	<b>20</b>
	<210>	495	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	495	
		<b>tgccacottc tcaattaagt</b>	<b>20</b>
45	<210>	496	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	496	
		<b>taatttgcca cttctcaat</b>	<b>20</b>
60	<210>	497	
	<211>	20	
65	<212>	ADN	



	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	497	
		<b>cataaacttgc cacotttctca</b>	<b>20</b>
10	<210>	498	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	498	
25		<b>acaccataaac ttgccacott</b>	<b>20</b>
	<210>	499	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	499	
40		<b>tcacaccata acttgccacc</b>	<b>20</b>
	<210>	500	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	500	
		<b>tagtccctga cttcaacttg</b>	<b>20</b>
	<210>	501	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	501	
	tgggtgtagt cactgacttc		20
10	<210>	502	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	502	
	gcgggttcag ccttcaggag		20
25	<210>	503	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	503	
40	tcatgaggat gatgacatgg		20
	<210>	504	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	504	
55	ccgcccattgt tgtgcaatcc		20
	<210>	505	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65			

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	505	
		<b>gtaattgggt ccccgcccat</b>	20
10	<210>	506	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	506	
		<b>aagtcccgga tctcatcaat</b>	20
25	<210>	507	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	507	
		<b>aacacataga catccagata</b>	20
40	<210>	508	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	508	
55		<b>caaagcattg atgttcactt</b>	20
	<210>	509	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	509	
5		<b>tttgaacaca tgttgctcat</b>	20
	<210>	510	
10	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	510	
		<b>cttccagggt ttccatatcc</b>	20
	<210>	511	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	511	
		<b>tcttccagggt ttccatatcc</b>	20
40	<210>	512	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	512	
		<b>agactcagag actggctttc</b>	20
55	<210>	513	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	513	
5		<b>gcctgccatg gttgcttgtg</b>	20
	<210>	514	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	514	
20		<b>tgactgagat cttggcctgc</b>	20
	<210>	515	
25	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	515	
		<b>ttctatctcc aggtcccgt</b>	20
	<210>	516	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	516	
		<b>agtcataaaa ttcaggaatt</b>	20
55	<210>	517	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	517	
5		<b>cgagttgttc cctcgggtgca</b>	20
	<210>	518	
	<211>	20	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	518	
20		<b>agcctcaaag ctcgagttgt</b>	20
	<210>	519	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	519	
35		<b>ggaggaagcc tcaaagctcg</b>	20
	<210>	520	
40	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	520	
		<b>gtagttggag gaagcctcaa</b>	20
	<210>	521	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65			

	<400>	521	
		<b>caagtggtag ttggaggaag</b>	<b>20</b>
5	<210>	522	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	522	
20		<b>tcctcagaca caaacagagc</b>	<b>20</b>
	<210>	523	
	<211>	20	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	523	
35		<b>ttctcctcct cagacacaaa</b>	<b>20</b>
	<210>	524	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	524	
50		<b>tagacctcct tccgagtcag</b>	<b>20</b>
	<210>	525	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	525	

		<b>ttgatgtaga cctccttccg</b>	<b>20</b>
5	<210>	526	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
15	<400>	526	
		<b>ctttcttata cccattcttg</b>	<b>20</b>
20	<210>	527	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
25	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	527	
		<b>gcctttctta tccccattct</b>	<b>20</b>
35	<210>	528	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
45	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	528	
50		<b>agctgccttt cttatcccca</b>	<b>20</b>
	<210>	529	
	<211>	20	
55	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	529	
65		<b>cagctgcctt tcttatcccc</b>	<b>20</b>



	<210>	530	
	<211>	20	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	530	
15		<b>acagctgcct ttcttatccc</b>	20
	<210>	531	
20	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	531	
		<b>gcattctctct cacagctgcc</b>	20
	<210>	532	
35	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	532	
		<b>agatgtcctt gactttgtca</b>	20
50	<210>	533	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	533	
		<b>cagcataggg actcactcct</b>	20
65	<210>	534	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	534	
		<b>ccgccagaat cacctctgca</b>	20
15	<210>	535	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	535	
30		<b>tgaatgaaac gacttctctt</b>	20
	<210>	536	
	<211>	20	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	536	
45		<b>acatccacta ctccccagct</b>	20
	<210>	537	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	537	
		<b>cgcttctggg ttttgcagac</b>	20
	<210>	538	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	538	
		<b>ttttgccgct tctggttttt</b>	20
	<210>	539	
15	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	539	
		<b>gcaggtaacct gcttttgccg</b>	20
30	<210>	540	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	540	
		<b>tcttggagtt tctccttcag</b>	20
45	<210>	541	
	<211>	16	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	541	
60		<b>ggaacatcca agcggg</b>	16
	<210>	542	
	<211>	16	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	542	
10		<b>tggtcacatt cccttc</b>	16
	<210>	543	
	<211>	16	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	543	
25		<b>cctggtcaca ttccct</b>	16
	<210>	544	
30	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	544	
		<b>gacctggtca cattcc</b>	16
	<210>	545	
45	<211>	16	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	545	
		<b>taacttgcca ccttct</b>	16
60	<210>	546	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	546	
	<b>cataacttgc cacctt</b>		16
10	<210>	547	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	547	
	<b>accataactt gccacc</b>		16
25	<210>	548	
	<211>	16	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	548	
40	<b>ccttccgagt cagctt</b>		16
	<210>	549	
	<211>	16	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	549	
55	<b>ctccttccga gtcagc</b>		16
	<210>	550	
60	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65			

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	550	
		<b>acctccttcc gagtca</b>	16
10	<210>	551	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	551	
		<b>ctttcttatac cccatt</b>	16
25	<210>	552	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	552	
		<b>gcctttcttta tcccca</b>	16
40	<210>	553	
	<211>	16	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	553	
55		<b>ctgcctttct tatccc</b>	16
	<210>	554	
	<211>	16	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	554	
5		<b>tttgccgctt ctggtt</b>	16
	<210>	555	
	<211>	16	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	555	
20		<b>cttttgccgc ttctgg</b>	16
	<210>	556	
25	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	556	
		<b>tgccttttgcc gattct</b>	16
	<210>	557	
40	<211>	16	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	557	
		<b>aaaccctaat cctcat</b>	16
55	<210>	558	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	558	
		<b>gaaaacccaa atcctc</b>	16
5	<210>	559	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	559	
		<b>tagaaaaccc aaatcc</b>	16
20	<210>	560	
	<211>	16	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	560	
35		<b>atagaaaacc caaatc</b>	16
	<210>	561	
	<211>	16	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	561	
50		<b>cttatagaaa acccaa</b>	16
	<210>	562	
55	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	562	



	<b>ccttatagaa aaccca</b>	<b>16</b>
	<210> 563	
5	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 563	
	<b>cccttataga aaaccc</b>	<b>16</b>
20	<210> 564	
	<211> 16	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 564	
	<b>cccccttatag aaaacc</b>	<b>16</b>
35	<210> 565	
	<211> 16	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 565	
	<b>accccttata gaaaac</b>	<b>16</b>
50	<210> 566	
	<211> 16	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 566	
65	<b>aacccttat agaaaa</b>	<b>16</b>

	<210>	567	
	<211>	16	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	567	
15		<b>aaacccctta tagaaa</b>	16
	<210>	568	
	<211>	16	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	568	
30		<b>gaaacccctt atagaa</b>	16
	<210>	569	
35	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	569	
		<b>ggaaacccct tataga</b>	16
	<210>	570	
50	<211>	16	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	570	
		<b>aggaaacccc ttatag</b>	16
65	<210>	571	

	<211>	16	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	571	
		<b>caggaaaccc cttata</b>	<b>16</b>
15	<210>	572	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	572	
		<b>gcaggaaacc ccttat</b>	<b>16</b>
30	<210>	573	
	<211>	16	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	573	
45		<b>agcaggaaac ccctta</b>	<b>16</b>
	<210>	574	
	<211>	16	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	574	
60		<b>cagcaggaaa cccctt</b>	<b>16</b>
	<210>	575	
65	<211>	16	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	575	
10		<b>ccagcaggaa acccct</b>	<b>16</b>
	<210>	576	
15	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	576	
		<b>tccagcagga aacccc</b>	<b>16</b>
	<210>	577	
30	<211>	16	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	577	
		<b>gtccagcagg aaaccc</b>	<b>16</b>
45	<210>	578	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	578	
		<b>tgtccagcag gaaacc</b>	<b>16</b>
60	<210>	579	
	<211>	16	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	579	
		<b>ctgtccagca ggaaac</b>	16
10	<210>	580	
	<211>	16	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	580	
25		<b>cctgtccagc aggaaa</b>	16
	<210>	581	
	<211>	16	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	581	
40		<b>ccctgtccag caggaa</b>	16
	<210>	582	
45	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	582	
		<b>cccctgtcca gcagga</b>	16
	<210>	583	
60	<211>	16	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	583	
		<b>gccccctgtcc agcagg</b>	16
10	<210>	584	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	584	
		<b>cgccccctgtc cagcag</b>	16
25	<210>	585	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	585	
		<b>acgccccctgt ccagca</b>	16
40	<210>	586	
	<211>	16	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	586	
55		<b>cacgccccctg tccagc</b>	16
	<210>	587	
	<211>	16	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	587	
5		<b>ccacgcccct gtccag</b>	16
	<210>	588	
10	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	588	
		<b>cccacgcccc tgtcca</b>	16
	<210>	589	
25	<211>	16	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	589	
		<b>tcccacgccc ctgtcc</b>	16
40	<210>	590	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	590	
		<b>atcccacgccc cctgtc</b>	16
55	<210>	591	
	<211>	16	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	591	
5		<b>aatcccaagc ccctgt</b>	16
	<210>	592	
	<211>	16	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	592	
20		<b>caatcccacg cccctg</b>	16
	<210>	593	
	<211>	16	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	593	
35		<b>tcaatcccac gcccct</b>	16
	<210>	594	
40	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	594	
		<b>ttcaatccca cgcccc</b>	16
	<210>	595	
55	<211>	16	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	595	



	<b>attcaatccc acgccc</b>	<b>16</b>
5	<210> 596	
	<211> 16	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 596	
	<b>aattcaatcc cagccc</b>	<b>16</b>
20	<210> 597	
	<211> 16	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 597	
	<b>taattcaatc ccacgc</b>	<b>16</b>
35	<210> 598	
	<211> 16	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 598	
50	<b>ttaattcaat cccacg</b>	<b>16</b>
	<210> 599	
	<211> 16	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
65	<400> 599	

	<b>ttttaattcaa tcccac</b>	<b>16</b>
	<210> 600	
5	<211> 16	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 600	
	<b>ttttaattca atccca</b>	<b>16</b>
20	<210> 601	
	<211> 16	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 601	
	<b>gttttaattc aatccc</b>	<b>16</b>
35	<210> 602	
	<211> 16	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 602	
50	<b>tgttttaatt caatcc</b>	<b>16</b>
	<210> 603	
	<211> 16	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 603	
65	<b>ctgttttaat tcaatc</b>	<b>16</b>

	<210>	604	
	<211>	16	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	604	
15		<b>gctgttttaa ttcaat</b>	<b>16</b>
	<210>	605	
	<211>	16	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	605	
30		<b>agctgtttta attcaa</b>	<b>16</b>
	<210>	606	
35	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	606	
		<b>cagctgtttt aattca</b>	<b>16</b>
	<210>	607	
50	<211>	16	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	607	
		<b>gcagctgttt taattc</b>	<b>16</b>
65	<210>	608	

	<211>	16	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	608	
		<b>cgcagctggt ttaatt</b>	<b>16</b>
15	<210>	609	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	609	
		<b>tcgcagctgt tttaat</b>	<b>16</b>
30	<210>	610	
	<211>	16	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	610	
45		<b>gtcgcagctg ttttaa</b>	<b>16</b>
	<210>	611	
	<211>	16	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	611	
60		<b>tgtcgcagct gtttta</b>	<b>16</b>
	<210>	612	
65	<211>	16	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	612	
10		<b>ttgtcgcagc tgtttt</b>	<b>16</b>
	<210>	613	
15	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	613	
		<b>gttgtcgcag ctgttt</b>	<b>16</b>
	<210>	614	
30	<211>	16	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	614	
		<b>tgttgtcgca gctgtt</b>	<b>16</b>
45	<210>	615	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	615	
		<b>ttgttgtcgc agctgt</b>	<b>16</b>
60	<210>	616	
	<211>	16	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	616	
10		<b>tttgttgtcg cagctg</b>	16
	<210>	617	
	<211>	16	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	617	
25		<b>ttttgttgtc gcagct</b>	16
	<210>	618	
30	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	618	
		<b>tttttgttgt cgcagc</b>	16
	<210>	619	
45	<211>	17	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	619	
		<b>gaaaacccaa atcctca</b>	17
60	<210>	620	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
65			

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	620	
		<b>agaaaaccca aatcctc</b>	17
10	<210>	621	
	<211>	17	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	621	
25		<b>tagaaaaccc aaatcct</b>	17
	<210>	622	
	<211>	17	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	622	
40		<b>atagaaaacc caaatcc</b>	17
	<210>	623	
45	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	623	
		<b>ttatagaaaa cccaaat</b>	17
	<210>	624	
60	<211>	17	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	624	
		<b>ctttagaaa acccaaa</b>	17
10	<210>	625	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	625	
		<b>ccttagaa aaccxaa</b>	17
25	<210>	626	
	<211>	17	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	626	
40		<b>cccttaga aaaccca</b>	17
	<210>	627	
	<211>	17	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	627	
55		<b>ccccttag aaaaccc</b>	17
	<210>	628	
60	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65			



	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	628	
		<b>accccttata gaaaacc</b>	17
10	<210>	629	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	629	
		<b>aacccttat agaaaac</b>	17
25	<210>	630	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	630	
		<b>aaaccctta tagaaa</b>	17
40	<210>	631	
	<211>	17	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	631	
55		<b>gaaaccctt atagaaa</b>	17
	<210>	632	
	<211>	17	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	632	
5		<b>ggaaaccct tatagaa</b>	17
	<210>	633	
	<211>	17	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	633	
20		<b>aggaaacccc ttataga</b>	17
	<210>	634	
25	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	634	
		<b>caggaaaccc cttatag</b>	17
	<210>	635	
40	<211>	17	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	635	
		<b>gcaggaaacc cttata</b>	17
55	<210>	636	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	636	
5		<b>agcaggaaac cccttat</b>	17
	<210>	637	
	<211>	17	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	637	
20		<b>cagcaggaaa cccctta</b>	17
	<210>	638	
	<211>	17	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	638	
35		<b>ccagcaggaa acccctt</b>	17
	<210>	639	
40	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	639	
		<b>tccagcagga aaccctt</b>	17
	<210>	640	
55	<211>	17	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	640	
		<b>gtccagcagg aaacccc</b>	17
5	<210>	641	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	641	
		<b>tgtccagcag gaaaccc</b>	17
20	<210>	642	
	<211>	17	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	642	
35		<b>ctgtccagca ggaaacc</b>	17
	<210>	643	
	<211>	17	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	643	
50		<b>cctgtccagc aggaaac</b>	17
	<210>	644	
55	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	644	

	<b>ccctgtccag caggaaa</b>	<b>17</b>
5	<210> 645	
	<211> 17	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 645	
	<b>gccccctgtcc agcagga</b>	<b>17</b>
20	<210> 646	
	<211> 17	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 646	
	<b>cgccccctgtc cagcagg</b>	<b>17</b>
35	<210> 647	
	<211> 17	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 647	
50	<b>acgccccctgt ccagcag</b>	<b>17</b>
	<210> 648	
	<211> 17	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 648	
65	<b>cacgccccctg tccagca</b>	<b>17</b>

	<210>	649	
	<211>	17	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	649	
15		<b>ccacgcccct gtccagc</b>	17
	<210>	650	
20	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	650	
		<b>cccacgcccc tgtccag</b>	17
	<210>	651	
35	<211>	17	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	651	
		<b>tcccacgccc ctgtcca</b>	17
50	<210>	652	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	652	
		<b>atcccacgcc cctgtcc</b>	17
65	<210>	653	

	<211>	17	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	653	
		<b>aatcccacgc ccctgtc</b>	17
15	<210>	654	
	<211>	17	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	654	
30		<b>caatcccacg cccctgt</b>	17
	<210>	655	
	<211>	17	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	655	
45		<b>tcaatcccac gccctg</b>	17
	<210>	656	
50	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	656	
		<b>ttcaatccca cgcccct</b>	17
	<210>	657	
65			

	<211>	17	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	657	
		<b>attcaatccc acgcccc</b>	<b>17</b>
15	<210>	658	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	658	
		<b>aattcaatcc cagcccc</b>	<b>17</b>
30	<210>	659	
	<211>	17	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	659	
45		<b>taattcaatc ccacgcc</b>	<b>17</b>
	<210>	660	
	<211>	17	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	660	
60		<b>ttaattcaat cccacgc</b>	<b>17</b>
	<210>	661	
65	<211>	17	



	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	661	
		<b>tttaattcaa tcccacg</b>	<b>17</b>
	<210>	662	
15	<211>	17	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	662	
		<b>ttttaattca atcccac</b>	<b>17</b>
30	<210>	663	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	663	
		<b>gttttaattc aatccca</b>	<b>17</b>
45	<210>	664	
	<211>	17	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	664	
60		<b>tgttttaatt caatccc</b>	<b>17</b>
	<210>	665	
	<211>	17	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	665	
10		<b>ctgttttaat tcaatcc</b>	<b>17</b>
	<210>	666	
	<211>	17	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	666	
25		<b>gctgttttaa ttcaatc</b>	<b>17</b>
	<210>	667	
30	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	667	
		<b>agctgtttta attcaat</b>	<b>17</b>
	<210>	668	
45	<211>	17	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	668	
		<b>cagctgtttt aattcaa</b>	<b>17</b>
60	<210>	669	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	669	
		<b>gcagctgttt taattca</b>	<b>17</b>
10	<210>	670	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	670	
		<b>cgagctgtt ttaattc</b>	<b>17</b>
25	<210>	671	
	<211>	17	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	671	
40		<b>tgcagctgt ttttaatt</b>	<b>17</b>
	<210>	672	
	<211>	17	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	672	
55		<b>gtgcagctg ttttaatt</b>	<b>17</b>
	<210>	673	
60	<211>	17	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	673	
		<b>tggtgcagct gtttta</b>	17
10	<210>	674	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	674	
		<b>ttgtgcagc tgttta</b>	17
25	<210>	675	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	675	
		<b>gttgcagc ctgttt</b>	17
40	<210>	676	
	<211>	17	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	676	
55		<b>tggtgcgca gctgtt</b>	17
	<210>	677	
	<211>	17	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	677	
5		<b>ttgttgtcgc agctgtt</b>	17
	<210>	678	
10	<211>	17	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	678	
		<b>tttgttgtcg cagctgt</b>	17
	<210>	679	
25	<211>	17	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	679	
		<b>ttttgttgtc gcagctg</b>	17
40	<210>	680	
	<211>	17	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	680	
		<b>tttttgttgt cgcagct</b>	17
55	<210>	681	
	<211>	19	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	681	
5		<b>tagaaaaaccc aaatcctca</b>	<b>19</b>
	<210>	682	
	<211>	19	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	682	
20		<b>atagaaaaacc caaatcctc</b>	<b>19</b>
	<210>	683	
25	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	683	
		<b>tatagaaaac ccaaatcct</b>	<b>19</b>
	<210>	684	
40	<211>	19	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	684	
		<b>ottatagaaa acccaaatc</b>	<b>19</b>
55	<210>	685	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	685	
		<b>ccttatagaa aacccaaat</b>	<b>19</b>
5	<210>	686	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	686	
		<b>cccttataga aaacccaaa</b>	<b>19</b>
20	<210>	687	
	<211>	19	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	687	
35		<b>ccccttatag aaaacccaa</b>	<b>19</b>
	<210>	688	
	<211>	19	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	688	
50		<b>accccttata gaaaaccga</b>	<b>19</b>
	<210>	689	
55	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	689	

	<b>aaccccttat agaaaaacc</b>	<b>19</b>
	<210> 690	
5	<211> 19	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 690	
	<b>aaacccctta tagaaaacc</b>	<b>19</b>
20	<210> 691	
	<211> 19	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 691	
	<b>gaaacccctt atagaaaac</b>	<b>19</b>
35	<210> 692	
	<211> 19	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 692	
50	<b>ggaaacccct tatagaaaa</b>	<b>19</b>
	<210> 693	
	<211> 19	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 693	
65	<b>aggaaacccc ttatagaaa</b>	<b>19</b>



	<210>	694	
	<211>	19	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	694	
15		<b>caggaaaccc cttatagaa</b>	<b>19</b>
	<210>	695	
20	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	695	
		<b>gcaggaaacc ccttataga</b>	<b>19</b>
	<210>	696	
35	<211>	19	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	696	
		<b>agcaggaaac cccttatag</b>	<b>19</b>
50	<210>	697	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	697	
		<b>cagcaggaaa ccccttata</b>	<b>19</b>
65			

	<210>	698	
	<211>	19	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	698	
15		<b>ccagcaggaa accccttat</b>	<b>19</b>
	<210>	699	
	<211>	19	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	699	
30		<b>tccagcagga aaccctta</b>	<b>19</b>
	<210>	700	
35	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	700	
		<b>gtccagcagg aaaccctt</b>	<b>19</b>
	<210>	701	
50	<211>	19	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	701	
		<b>tgtccagcag gaaaccct</b>	<b>19</b>
65	<210>	702	

	<211>	19	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	702	
		<b>cctgtccagc aggaaaccc</b>	<b>19</b>
15	<210>	703	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	703	
		<b>ccctgtccag caggaaacc</b>	<b>19</b>
30	<210>	704	
	<211>	19	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	704	
45		<b>ccctgtcca gcaggaaac</b>	<b>19</b>
	<210>	705	
	<211>	19	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	705	
60		<b>gcccctgtcc agcaggaaa</b>	<b>19</b>
	<210>	706	
65	<211>	19	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	706	
10		<b>acgccccctgt ccagcagga</b>	<b>19</b>
	<210>	707	
15	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	707	
		<b>cacgccccctg tccagcagg</b>	<b>19</b>
	<210>	708	
30	<211>	19	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	708	
		<b>ccacgccccct gtccagcag</b>	<b>19</b>
45	<210>	709	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	709	
		<b>cccacgcccc tgtccagca</b>	<b>19</b>
60	<210>	710	
	<211>	19	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	710	
		<b>tccccacgccc ctgtccagc</b>	<b>19</b>
10	<210>	711	
	<211>	19	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	711	
25		<b>atccccacgccc cctgtccag</b>	<b>19</b>
	<210>	712	
	<211>	19	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	712	
40		<b>aatccccacgccc cctgtcca</b>	<b>19</b>
	<210>	713	
45	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	713	
		<b>caatccccacg cccctgtcc</b>	<b>19</b>
	<210>	714	
60	<211>	19	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	714	
		<b>tcaatccac gccctgtc</b>	<b>19</b>
10	<210>	715	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	715	
		<b>ttcaatccca cgcctgt</b>	<b>19</b>
25	<210>	716	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	716	
		<b>attcaatccc acgcctgt</b>	<b>19</b>
40	<210>	717	
	<211>	19	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	717	
55		<b>aattcaatcc cagccct</b>	<b>19</b>
	<210>	718	
	<211>	19	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	718	
5		<b>taattcaatc ccacgccc</b>	<b>19</b>
	<210>	719	
	<211>	19	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	719	
20		<b>ttaattcaat cccacgccc</b>	<b>19</b>
	<210>	720	
25	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	720	
		<b>tttaattcaa tcccacgcc</b>	<b>19</b>
	<210>	721	
40	<211>	19	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	721	
		<b>ttttaattca atcccacgc</b>	<b>19</b>
55	<210>	722	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	722	
		<b>gttttaattc aatcccacg</b>	<b>19</b>
5	<210>	723	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	723	
		<b>tgtttttaatt caatcccac</b>	<b>19</b>
20	<210>	724	
	<211>	19	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	724	
		<b>ctgtttttaat tcaatccca</b>	<b>19</b>
35	<210>	725	
	<211>	19	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	725	
50		<b>gctgttttaa ttcaatccc</b>	<b>19</b>
	<210>	726	
55	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	726	



**agctgtttta attcaatcc****19**

&lt;210&gt; 727

5 &lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia artificial

10 &lt;220&gt;

&lt;223&gt; Oligonucleótido sintético

15 &lt;400&gt; 727

**cagctgtttt aattcaatc****19**

&lt;210&gt; 728

20 &lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; ADN

25 &lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Oligonucleótido sintético

30 &lt;400&gt; 728

**gcagctgttt taattcaat****19**

&lt;210&gt; 729

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; ADN

40 &lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Oligonucleótido sintético

45 &lt;400&gt; 729

**cgcagctgtt ttaattcaa****19**

&lt;210&gt; 730

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Oligonucleótido sintético

&lt;400&gt; 730

**tgcagctgt ttaattca****19**

65

	<210>	731	
	<211>	19	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	731	
15		<b>gtcgcagctg ttttaattc</b>	<b>19</b>
	<210>	732	
	<211>	19	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	732	
30		<b>tgctgcagct gttttaatt</b>	<b>19</b>
	<210>	733	
35	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	733	
		<b>ttgtgcgagc tgttttaat</b>	<b>19</b>
	<210>	734	
50	<211>	19	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	734	
		<b>gttgtgcgag ctgttttaa</b>	<b>19</b>
65	<210>	735	

	<211>	19	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	735	
15		<b>tggttgctgca gctgtttta</b>	<b>19</b>
	<210>	736	
	<211>	19	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	736	
30		<b>ttgtttgtcgc agctgtttt</b>	<b>19</b>
	<210>	737	
	<211>	19	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	737	
45		<b>tttgtttgtcg cagctgttt</b>	<b>19</b>
	<210>	738	
50	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	738	
		<b>ttttgtttgtc gcagctgtt</b>	<b>19</b>
	<210>	739	
65	<211>	19	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	739	
		<b>ttttttgtttgt cgcagctgt</b>	<b>19</b>
	<210>	740	
15	<211>	18	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	740	
		<b>cccccttatag aaaaccca</b>	<b>18</b>
30	<210>	741	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	741	
		<b>accccttata gaaaaccc</b>	<b>18</b>
45	<210>	742	
	<211>	18	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	742	
60		<b>aaacccttat agaaaacc</b>	<b>18</b>
	<210>	743	
	<211>	18	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	743	
10		<b>aaacccctta tagaaaac</b>	<b>18</b>
	<210>	744	
	<211>	18	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	744	
25		<b>gaaacccctt atagaaaa</b>	<b>18</b>
	<210>	745	
30	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	745	
		<b>aggaacccc ttatagaa</b>	<b>18</b>
	<210>	746	
45	<211>	18	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	746	
		<b>caggaaaccc cttataga</b>	<b>18</b>
60	<210>	747	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	747	
	<b>gcaggaaacc ccttatag</b>		<b>18</b>
10	<210>	748	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	748	
	<b>agcaggaaac cccttata</b>		<b>18</b>
25	<210>	749	
	<211>	18	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	749	
40	<b>cagcaggaaa ccccttat</b>		<b>18</b>
	<210>	750	
	<211>	18	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	750	
55	<b>ccagcaggaa acccctta</b>		<b>18</b>
	<210>	751	
60	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	751	
5		<b>tccagcagga aacccctt</b>	18
	<210>	752	
10	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	752	
		<b>gtccagcagg aaacccct</b>	18
	<210>	753	
25	<211>	18	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	753	
		<b>tgtccagcag gaaccccc</b>	18
40	<210>	754	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	754	
		<b>ctgtccagca ggaaaccc</b>	18
55	<210>	755	
	<211>	18	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	

	<400>	755	
5		<b>cctgtccagc aggaaacc</b>	<b>18</b>
	<210>	756	
	<211>	18	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	756	
20		<b>ccctgtccag caggaaac</b>	<b>18</b>
	<210>	757	
	<211>	18	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	757	
35		<b>cccctgtcca gcaggaaa</b>	<b>18</b>
	<210>	758	
40	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	758	
		<b>cgcccctgtc cagcagga</b>	<b>18</b>
	<210>	759	
55	<211>	18	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	759	



	<b>acgccccctgt ccagcagg</b>	<b>18</b>
5	<210> 760	
	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 760	
	<b>cacgccccctg tccagcag</b>	<b>18</b>
20	<210> 761	
	<211> 18	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 761	
	<b>ccacgccccct gtcacaga</b>	<b>18</b>
35	<210> 762	
	<211> 18	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 762	
50	<b>cccacgcccc tgtccaga</b>	<b>18</b>
	<210> 763	
	<211> 18	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
60	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
65	<400> 763	

	<b>tcccacgccc ctgtccag</b>	<b>18</b>
	<210> 764	
5	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 764	
	<b>atcccacgcc cctgtcca</b>	<b>18</b>
20	<210> 765	
	<211> 18	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 765	
	<b>aatcccacgc cctgtcc</b>	<b>18</b>
35	<210> 766	
	<211> 18	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 766	
	<b>caatcccacg cccctgtc</b>	<b>18</b>
50	<210> 767	
	<211> 18	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 767	
65	<b>tcaatcccac gccctgt</b>	<b>18</b>

	<210>	768	
	<211>	18	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	768	
15		<b>ttcaatccca cgcacctg</b>	<b>18</b>
	<210>	769	
	<211>	18	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	769	
30		<b>attcaatccc acgcccct</b>	<b>18</b>
	<210>	770	
35	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	770	
		<b>aattcaatcc cagcccc</b>	<b>18</b>
	<210>	771	
50	<211>	18	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	771	
		<b>taattcaatc ccacgccc</b>	<b>18</b>
65	<210>	772	

	<211>	18	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	772	
		<b>ttaattcaat cccaagcc</b>	<b>18</b>
15	<210>	773	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	773	
		<b>tttaattcaa tccaagc</b>	<b>18</b>
30	<210>	774	
	<211>	18	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	774	
45		<b>ttttaattca atccaag</b>	<b>18</b>
	<210>	775	
	<211>	18	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	775	
60		<b>gtttaattc aatccac</b>	<b>18</b>
	<210>	776	
65	<211>	18	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	776	
10		<b>tgtttttaatt caatccca</b>	<b>18</b>
	<210>	777	
15	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	777	
		<b>ctgtttttaat tcaatccc</b>	<b>18</b>
	<210>	778	
30	<211>	18	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	778	
		<b>gctgtttttaa ttcaatcc</b>	<b>18</b>
45	<210>	779	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	779	
		<b>agctgttttta attcaatc</b>	<b>18</b>
60	<210>	780	
	<211>	18	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	780	
		<b>cagctgtttt aattcaat</b>	<b>18</b>
10	<210>	781	
	<211>	18	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	781	
25		<b>gcagctgttt taattcaa</b>	<b>18</b>
	<210>	782	
	<211>	18	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	782	
40		<b>cgcagctgtt ttaattca</b>	<b>18</b>
	<210>	783	
45	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	783	
		<b>tgcagctgt ttttaattc</b>	<b>18</b>
	<210>	784	
60	<211>	18	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	784	
		<b>gtcgcagctg ttttaatt</b>	<b>18</b>
10	<210>	785	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	785	
		<b>tagaaaaacc aaatcctc</b>	<b>18</b>
25	<210>	786	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	786	
		<b>atagaaaacc caaatcct</b>	<b>18</b>
40	<210>	787	
	<211>	18	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	787	
55		<b>tatagaaaac ccaaatcc</b>	<b>18</b>
	<210>	788	
	<211>	18	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	788	
5		<b>ttatagaaaa cccaaatc</b>	18
	<210>	789	
	<211>	18	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	789	
20		<b>cttatagaaa acccaaat</b>	18
	<210>	790	
25	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	790	
		<b>ccttatagaa aaccctaaa</b>	18
	<210>	791	
40	<211>	18	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	791	
		<b>cccttataga aaaccctaa</b>	18
55	<210>	792	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	



	<400>	792	
		<b>tgctgcagct gttttaat</b>	<b>18</b>
5	<210>	793	
	<211>	18	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	793	
		<b>ttgtgcagc tgttttaa</b>	<b>18</b>
20	<210>	794	
	<211>	18	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	794	
		<b>gttgcgcag ctgtttta</b>	<b>18</b>
35	<210>	795	
	<211>	18	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	795	
50		<b>tggtgcgca gctgtttt</b>	<b>18</b>
	<210>	796	
55	<211>	18	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	796	

	<b>ttgtttgtgc agctgttt</b>	<b>18</b>
	<210> 797	
5	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
10	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
15	<400> 797	
	<b>tttgtttgtcg cagctgtt</b>	<b>18</b>
	<210> 798	
20	<211> 18	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Oligonucleótido sintético	
30	<400> 798	
	<b>ttttgtttgtc gcagctgt</b>	<b>18</b>
35	<210> 799	
	<211> 18	
	<212> ADN	
40	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
45	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 799	
	<b>tttttgtttgt cgcagctg</b>	<b>18</b>
50	<210> 800	
	<211> 16	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
60	<223> Oligonucleótido sintético	
	<400> 800	
65	<b>aaaacccaaa tcttca</b>	<b>16</b>

	<210>	801	
	<211>	16	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	801	
15		<b>agaaaaccca aatcct</b>	<b>16</b>
	<210>	802	
	<211>	16	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	802	
30		<b>tatagaaaac ccaaat</b>	<b>16</b>
	<210>	803	
35	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	803	
		<b>ttatagaaaa cccaaa</b>	<b>16</b>
	<210>	804	
50	<211>	20	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	804	
		<b>gcataagagg gtaccagctg</b>	<b>20</b>
65	<210>	805	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	805	
		<b>gtccttttagc cagggcagca</b>	<b>20</b>
15	<210>	806	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	806	
		<b>tccacccatg ttgtgcaagc</b>	<b>20</b>
30	<210>	807	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	807	
45		<b>ccacacccatg ccacagagac</b>	<b>20</b>
	<210>	808	
	<211>	20	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	808	
60		<b>ttccgagtca ggctcttccc</b>	<b>20</b>
	<210>	809	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	809	
10		<b>ccttccctga aggttccctcc</b>	20
	<210>	810	
15	<211>	21	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Cebador	
25	<400>	810	
		<b>agtctctgtg gcatggtttg g</b>	21
	<210>	811	
30	<211>	21	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	cebador	
40	<400>	811	
		<b>gggcgaatga ctgagatctt g</b>	21
45	<210>	812	
	<211>	27	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Sonda	
	<400>	812	
		<b>taccgattac cacaagcaac catggca</b>	27
60	<210>	813	
	<211>	22	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Cebador	
	<400>	813	
		<b>cgaagcagct caatgaaatc aa</b>	<b>22</b>
10	<210>	814	
	<211>	18	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Cebador	
	<400>	814	
25		<b>tgccctggagg gccttctt</b>	<b>18</b>
	<210>	815	
	<211>	18	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Sonda	
	<400>	815	
40		<b>agaccacaag ttgaagtc</b>	<b>18</b>
	<210>	816	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Cebador	
55	<400>	816	
		<b>gggcaaacag caatttgtga</b>	<b>20</b>
	<210>	817	
60	<211>	20	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Cebador	
5	<400>	817	
		<b>tggtaccca ccttccttgt</b>	<b>20</b>
10	<210>	818	
	<211>	28	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Sonda	
	<400>	818	
		<b>ctggatactg tcccaatccc ggtattcc</b>	<b>28</b>
25	<210>	819	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	819	
		<b>cgaagaagct cagtgaatc aa</b>	<b>22</b>
40	<210>	820	
	<211>	18	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	820	
55		<b>tgcttgagg gccctctt</b>	<b>18</b>
	<210>	821	
	<211>	20	
60	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
65	<220>		

	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	821	
5		<b>agcttcttgt ccagctttat</b>	20
	<210>	822	
	<211>	21	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	822	
20		<b>agcttcttgt ccagctttat a</b>	21
	<210>	823	
25	<211>	14	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
35	<400>	823	
		<b>tcagtcatga cttc</b>	14
	<210>	824	
40	<211>	15	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
50	<400>	824	
		<b>tcagtcatga ctcca</b>	15
55	<210>	825	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
65	<223>	Oligonucleótido sintético	



	<400>	825	
		<b>gctgattaga gagaggtccc</b>	<b>20</b>
5	<210>	826	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	826	
		<b>tcccatttca ggagacctgg</b>	<b>20</b>
20	<210>	827	
	<211>	15	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	827	
35		<b>atcagtcatg acttc</b>	<b>15</b>
	<210>	828	
	<211>	20	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	828	
50		<b>cggtgcaagg cttaggaatt</b>	<b>20</b>
	<210>	829	
55	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
65	<400>	829	

	<b>gcttcagtc</b>	<b>tgacttcctt</b>	<b>20</b>
	<210>	830	
5	<211>	21	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
10	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
15	<400>	830	
	<b>gcttcagtc</b>	<b>tgacttcctt</b>	<b>21</b>
	<210>	831	
20	<211>	21	
	<212>	ADN	
25	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
30	<400>	831	
	<b>agcttcagtc</b>	<b>atgacttcct</b>	<b>21</b>
35	<210>	832	
	<211>	20	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
45	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	832	
	<b>tggtaatcca</b>	<b>ctttcagagg</b>	<b>20</b>
50	<210>	833	
	<211>	21	
55	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
60	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	833	
65	<b>tggtaatcca</b>	<b>ctttcagagg</b>	<b>21</b>

	<210>	834	
	<211>	21	
5	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
10	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	834	
15		<b>tgcttcagtc atgacttcct t</b>	<b>21</b>
	<210>	835	
	<211>	20	
20	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	835	
30		<b>cactgatttt tgcccaggat</b>	<b>20</b>
	<210>	836	
35	<211>	21	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
45	<400>	836	
		<b>cactgatttt tgcccaggat a</b>	<b>21</b>
	<210>	837	
50	<211>	21	
	<212>	ADN	
55	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
60	<400>	837	
		<b>aagcttcttg tccagcttta t</b>	<b>21</b>
65	<210>	838	

	<211>	20	
	<212>	ADN	
5	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
10	<400>	838	
		<b>accgaattca gaaggaagga</b>	<b>20</b>
15	<210>	839	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
20	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
25	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	839	
		<b>accgaattca gaaggaagga a</b>	<b>21</b>
30	<210>	840	
	<211>	21	
35	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
40	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	840	
45		<b>aaccgaattc agaaggaagg a</b>	<b>21</b>
	<210>	841	
	<211>	21	
50	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	841	
60		<b>atggtaatcc actttcagag g</b>	<b>21</b>
	<210>	842	
65	<211>	20	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	842	
10		<b>tcttggttac atgaaatccc</b>	<b>20</b>
	<210>	843	
15	<211>	21	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
25	<400>	843	
		<b>tcttggttac atgaaatccc a</b>	<b>21</b>
	<210>	844	
30	<211>	20	
	<212>	ADN	
35	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
40	<400>	844	
		<b>attcactttc ataatgctgg</b>	<b>20</b>
45	<210>	845	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
55	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	845	
		<b>attcactttc ataatgctgg a</b>	<b>21</b>
60	<210>	846	
	<211>	21	
65	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	846	
		<b>atcttgggta catgaaatcc c</b>	<b>21</b>
10	<210>	847	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	847	
25		<b>tgctccggtg gtgcttggtc</b>	<b>20</b>
	<210>	848	
	<211>	20	
30	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	848	
40		<b>atgcatggtg atgcttctga</b>	<b>20</b>
	<210>	849	
45	<211>	20	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
55	<400>	849	
		<b>cagctttatt agggacagca</b>	<b>20</b>
	<210>	850	
60	<211>	21	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
5	<400>	850	
		<b>cagctttatt agggacagca a</b>	<b>21</b>
10	<210>	851	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
15	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	851	
		<b>acagctttat tagggacagc a</b>	<b>21</b>
25	<210>	852	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
30	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
35	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<400>	852	
		<b>ttcagtcatg acttcc</b>	<b>16</b>
40	<210>	853	
	<211>	20	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
50	<223>	Oligonucleótido sintético	
	<220>		
55	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(5)	
	<223>	Las bases en estas posiciones son ARN	
60	<220>		
	<221>	misc_feature	
65	<222>	(16)..(20)	

	<223>	Las bases en estas posiciones son ARN	
	<400>	853	
5		<b>gcuucagtc</b> a tgactuccuu	<b>20</b>
	<210>	854	
	<211>	21	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
15	<220>		
	<223>	Oligonucleótido sintético	
20	<400>	854	
		<b>tgctcagttg</b> gtgcttgttc a	<b>21</b>



## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado monocatenario y un grupo conjugado, en el que el oligonucleótido modificado consiste en de 16 a 30 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 455, 237, 448, 453, 444, 450, 598, 198, 549 y 228 en el que el oligonucleótido modificado tiene:

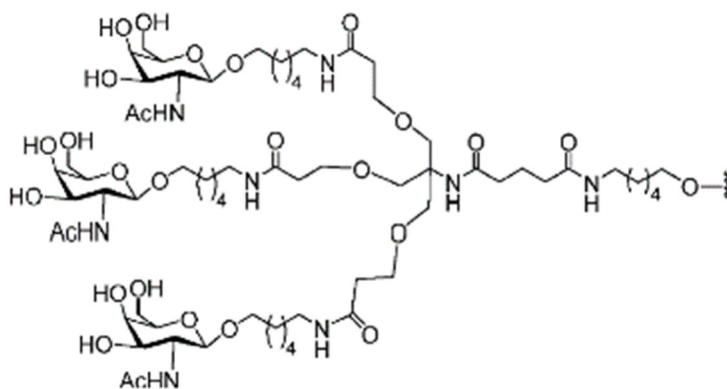
un segmento de hueso que consiste en desoxinucleósidos enlazados;

un segmento de ala 5' que consiste en nucleósidos enlazados; y

un segmento de ala 3' que consiste en nucleósidos enlazados;

en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3' y en el que cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un glúcido modificado;

en el que el grupo conjugado comprende:



y en el que el compuesto puede inhibir la expresión del factor B del complemento (CFB).

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el oligonucleótido modificado consiste en 20 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que consiste en la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 455, 237, 453, 444, 448, 450, 198 o 228, en el que el oligonucleótido modificado tiene:

un segmento de hueso que consiste en diez desoxinucleósidos enlazados;

un segmento de ala 5' que consiste en cinco nucleósidos enlazados; y

un segmento de ala 3' que consiste en cinco nucleósidos enlazados;

en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en el que cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un glúcido 2'-O-metoxietilo; en el que cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace fosforotioato y en el que cada citosina es una 5-metilcitosina.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el oligonucleótido modificado consiste en 16 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que consiste en la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 598, en el que el oligonucleótido modificado tiene:

un segmento de hueso que consiste en diez desoxinucleósidos enlazados;

un segmento de ala 5' que consiste en tres nucleósidos enlazados; y

un segmento de ala 3' que consiste en tres nucleósidos enlazados;

en el que el segmento de hueso se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3'; en el que el segmento de ala 5' comprende un glúcido 2'-O-metoxietilo, glúcido 2'-O-metoxietilo y glúcido cEt en la dirección 5' a 3'; en el que el segmento de ala 3' comprende un glúcido cEt, glúcido cEt y glúcido 2'-O-metoxietilo en la dirección 5' a 3'; en el que cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace fosforotioato; y en el que cada citosina es una 5-metilcitosina.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el oligonucleótido modificado consiste en 16 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que consiste en la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 549, en el que el oligonucleótido modificado tiene:
- 5 un segmento de hueco que consiste en diez desoxinucleósidos enlazados;
- un segmento de ala 5' que consiste en tres nucleósidos enlazados; y
- 10 un segmento de ala 3' que consiste en tres nucleósidos enlazados;
- en el que el segmento de hueco se sitúa entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3'; en el que cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un glúcido cEt; en el que cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado es un enlace fosforotioato; y en el que cada citosina es una 5-metilcitosina.
- 15 5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el oligonucleótido es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % complementario a SEQ ID NO: 1 o 2.
6. El compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 5, en el que el glúcido modificado es un glúcido bicíclico, opcionalmente en el que el glúcido bicíclico se selecciona del grupo que consiste en: 4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2' (LNA); 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2' (ENA); y 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2' (cEt).
- 20 7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 5 o 6, en el que el glúcido modificado es 2'-O-metoxietilo.
8. El compuesto de la reivindicación 1, o una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en el que el oligonucleótido modificado comprende al menos un enlace internucleosídico modificado o al menos una nucleobase modificada.
9. El compuesto de la reivindicación 8, en el que el enlace internucleosídico modificado es un enlace internucleosídico fosforotioato o en el que cada enlace internucleosídico del oligonucleótido modificado comprende un enlace internucleosídico fosforotioato.
- 30 10. El compuesto de la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en el que la nucleobase modificada es una 5-metilcitosina.
11. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el grupo conjugado se enlaza al oligonucleótido modificado:
- 35 (i) en el extremo 5' del oligonucleótido modificado; o
- 40 (ii) en el extremo 3' del oligonucleótido modificado.
12. Una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una sal del mismo y al menos uno de un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 45 13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una composición de acuerdo con la reivindicación 12 para su uso en el tratamiento de una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la vía alternativa del complemento en un sujeto.
14. El compuesto o composición para su uso de la reivindicación 13, en el que la enfermedad es:
- 50 a) degeneración macular, degeneración macular senil (DMS), DMS húmeda, DMS seca o atrofia geográfica;
- b) una nefropatía, opcionalmente en la que la nefropatía es nefritis lúpica, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad por depósitos densos (EDD), glomerulonefritis C3 (C3GN), nefropatía CFHR5 o síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa).
- 55